VITALITÄTSMUTATIONEN
AUSGELÖST DURCH RÖNTGENSTRAHLEN BEI DROSOPHILA MELANOGASTER

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER PHILOSOPHISCHEN DOKTORWÜRDE

VORGELEGT DER

PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT II

DER

UNIVERSITÄT ZÜRICH

VON

ETTA KÄFER

AUS ST. GALLEN

BEGUTACHTET VON

HERRN PROF. DR. E. HADORN

ZÜRICH 1953

DRUCK DER UNIVERSITÄTSDRUCKEREI H. STÜRTZ AG., WÜRZBURG

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderabdruck aus „Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre".
Band 84, Heft 5, Seite 508—535, 1952

(Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg)

Aus dem Zoologisch vergleichend-anatomischen Institut der Universität Zürich.

VITALITÄTSMUTATIONEN, AUSGELÖST DURCH RÖNTGENSTRAHLEN BEI *DROSOPHILA MELANOGASTER*.

Von

ETTA KÄFER.

Mit 10 Textabbildungen.

(Eingegangen am 21. April 1952.)

Inhalt.

Seite

I. Einleitung 509
1. Problemstellung 509
2. Frühere Experimente und Ergebnisse 509
3. Versuchsanordnung 510

II. Material und Methode 511
1. Versuchsstamm 511
2. Bestrahlung 512
3. Futter 512
4. Temperatur 512
5. Kreuzung und Auszählung 512

III. Statistische Auswertung des Zahlenmaterials 515
Experiment A 515
a) Verhältnisse bei den Kontrollen 515
b) Verhältnisse bei den Versuchsserien 518
1. Gruppieren der verschiedenen Auszählungen in Klassen gleichen Verhältnisses und Bestimmung der Klassenfrequenz 518
α) Klassen von $\varphi = 3^0$ (nach Winkeltransformation) 518
β) Klassen von 10 Vitalitätsprozent 521
2. Häufigkeiten außerhalb der $\varkappa^2$-Kurve 523
Experiment B 525

IV. Ergebnisse 526
1. Dosisabhängigkeit der Mutationsrate 528
2. Vergleich der Häufigkeit von Letalmutationen mit der Häufigkeit von Semiletalen + Subvitalen 529
Experiment A 529
Experiment B 530
3. Vergleich des Verhältnisses der Häufigkeit von vitalitätsvermindernden zu letalen Mutationen bei X- und 2. Chromosom 531
4. Verhältnis der Mutationshäufigkeiten des 2. und des X-Chromosoms 531

V. Zusätzliche Feststellungen 532
1. Weiterzucht von Semiletalen von Experiment A 532
2. Lethalclusters 532
3. Translokationen 532
4. Allgemeinvitalität in den Serien verschiedener Bestrahlungsdosis 533
5. Auskreuzung mit wiederholt aufgetretenen Phenol-Letalfaktoren 534
6. Mehrfach aufgetretene sichtbare Mutationen (?) 534

Zusammenfassung 534

Literatur 535

I. Einleitung.

1. *Problemstellung.*

Die Mutationshäufigkeit ist für auffallend sichtbare und letale Mutationen relativ einfach zu bestimmen. Außer solchen Änderungen treten häufig Mutationen auf, deren Wirkung schwierig zu erfassen ist. Als Haupteffekt können wir indes feststellen, daß Träger solcher Mutationen eine veränderte Vitalität aufweisen. Diese Mutationen lassen sich nach HADORN (1949) wie folgt benennen und abgrenzen:

Semiletale: Vitalität kleiner als 50%.
Subvitale: Vitalität über 50%, kleiner als normal.
Supervitale: Vitalität größer als normal.

Da die meisten Vitalitätsmutationen eine Herabsetzung der Lebenstüchtigkeit bewirken, werden sie von MULLER (1934) als „detrimental mutations" bezeichnet.

Unter Vitalität im weiteren Sinne werden 4 verschiedene Größen zusammengefaßt, die alle für die Lebenstüchtigkeit und die Vermehrungsfähigkeit einer Genkombination oder einer Art von größter Wichtigkeit sind:

1. Fekundität (Zahl der pro Zeiteinheit abgelegten Eier).
2. Dauer der Fortpflanzungsperiode.
3. Aufwachszahl (Anzahl der das Imaginalstadium erreichenden Nachkommen).
4. Fertilität (Zahl der vermehrungsfähigen Nachkommen, vgl. HADORN und ZELLER 1943).

Um *alle* Vitalitätsmutationen zu erfassen, müßte also die Häufigkeit der Mutationen, die irgendeine dieser 4 Größen beeinflussen, festgestellt werden. Dazu bedarf es jedoch ganz verschiedener experimenteller Anordnungen. Untersuchungen über Vitalitätsmutationen beschränken sich deshalb im allgemeinen auf Mutationen mit Einfluß auf die *Aufwachszahl.* Das gilt auch für diese Arbeit und unter Vitalitätsmutationen seien im folgenden immer Mutationen mit Einfluß auf die Aufwachszahl verstanden. Und zwar wird diese hier als relative Größe bestimmt, indem man die Individuenzahl einer Mendelklasse (Träger desselben bestrahlten Chromosoms) mit der Anzahl der anderen Klasse (deren Genotyp als normal angenommen wird) vergleicht.

Die Häufigkeit solcher Vitalitätsmutationen ist nach den bis heute vorliegenden Untersuchungen recht groß; doch liegen sehr wenige genauere Angaben darüber vor, da ihre Erfassung ziemlich schwierig und mühevoll ist. Dies gilt besonders für jene Mutanten, die nur geringe Abweichung vom Normalen bewirken, also schwach Subvitale und Supervitale. Es wird deshalb in vorliegender Arbeit versucht, die Häufigkeit von Vitalitätsmutationen verschiedenen Grades, vor allem von Subvitalen, zu bestimmen.

2. *Frühere Experimente und Ergebnisse.*

Zwei quantitative Untersuchungen wurden unabhängig voneinander fast gleichzeitig durchgeführt: von TIMOFEÉFF (1935) und von KERKIS (1938) in Zusammenarbeit mit MULLER (MULLER 1950, S. 34). Die Vitalitätsbestimmung war in beiden Arbeiten entsprechend: Spermien wurden bestrahlt und die Häufigkeit geschlechtsgekoppelter „detrimentals" festgestellt, die an der Verkleinerung des Verhältnisses der F_2-Männchen mit einem bestrahlten X-Chromosom, zu jenen mit einem unbestrahlten Chromosom erkannt wurden. In beiden Arbeiten

wurde auf Grund der Ergebnisse eine 3—4mal so große Totalhäufigkeit von „detrimentals" als von Letalen angenommen.

Wie oben erwähnt, umfassen diese Arbeiten nur die Häufigkeit von Vitalitätsmutationen im engeren Sinne, also Mutationen mit Einfluß auf die Aufwachszahl, so daß die Gesamtrate von Mutationen, die die Lebenstüchtigkeit beeinflussen, noch höher eingeschätzt werden müßte.

Die Genauigkeit, die von der Größe der Auszählungen abhängt, ist in den Experimenten von TIMOFEÉFF und KERKIS annähernd gleich. Die sich ergebende Streuung bewirkt, daß nur Mutationen mit über 15% Abweichung von normaler Vitalität statistisch erfaßt werden können (vgl. S. 530). Ihre Häufigkeit macht ungefähr die Hälfte obiger Schätzung aus, nämlich $1^1/_2$—2mal die Größe der Letalmutationsrate. Mutationen mit kleinerer Wirkung sind also nicht direkt festgestellt (ihre Häufigkeit wurde indirekt geschätzt). So sagt MULLER an oben erwähnter Stelle (1950, S. 34f.): "For all we know, the 'very small mutations', as yet not detected at all, may be comparable in frequency to all the rest put together[1]. ... Although the task of obtaining the necessary evidence would be formidable, it ought to be set down as a major aim."

Die Arbeiten von TIMOFÉEFF und KERKIS beschränken sich auf die Vitalitätsmutationen des X-Chromosoms. Untersuchungen für das 2. Chromosom liegen von HADORN (1950) vor. Hier wurde nach Phenolbehandlung von Ovarien in der F_3 als Maß der Vitalität das Verhältnis von +/+-Tieren (homozygot für das behandelte Chromosom) zu +/*Cy*-Tieren bestimmt und dabei in erfolgreichen Phenolserien neben Letalen und Semiletalen auch Subvitale festgestellt.

3. *Versuchsanordnung.*

Da bei der Bestrahlung auf allen Chromosomen Mutationen entstehen, die die Vitalität verändern und sich möglicherweise gegenseitig beeinflussen, sollte dasjenige Chromosom, das auf Vitalitätsmutationen geprüft wird, von allen übrigen bestrahlten Chromosomen durch Auskreuzung isoliert werden. Es müßten also z. B. zur Bestimmung der Vitalitätsmutationen auf dem X-Chromosom nicht nur dieses, sondern auch alle Autosomen durch Verwendung markierter Inversionschromosomen kontrolliert werden. Für diejenige Kreuzung, in der zur Vitalitätsbestimmung die Mendelklassen des X-Chromosoms ausgezählt werden, könnten dann Elterntiere ausgewählt werden, die für alle Autosomen (und zwar lauter nichtbestrahlte) einander gleich sind. Auf diese Weise würde jedes bestrahlte Chromosom, das auf Vitalitätsmutationen untersucht werden soll, *getrennt* von den übrigen bestrahlten Chromosomen, in ein möglichst konstantes und durchwegs gleiches genetisches Milieu eingekreuzt. Dies wird unbedingte Voraussetzung dafür sein, daß auch Mutationen mit schwächster Wirkung deutlich zum Ausdruck kommen und mit Sicherheit festgestellt werden können.

[1] MULLER fährt hier fort: "If so, the figure for the detrimental effects of mutations, both induced and spontaneous, on population would have to be revised upward far beyond the above estimates," und bezieht sich dabei auf die oben angeführte Schätzung der *Total*häufigkeit von „detrimentals" (rund 4mal so häufig wie Letalmutationen). Diese Schätzung, die (wie oben erwähnt) sowohl bei TIMOFEÉFF als bei KERKIS etwa das Doppelte der Häufigkeit der statistisch erfaßbaren „detrimentals" (mit Abweichungen über 15%) beträgt, enthält aber schon jene Fälle mit kleinsten Abweichungen und ist also kaum mehr zu erhöhen.

Außerdem sollte die Mutationsrate auf allen Chromosomen *gleichzeitig* geprüft werden: erstens um die Gesamtmutationsrate festzustellen, und zweitens um die Frage zu klären, ob die relative Häufigkeit der verschiedenen Typen von Vitalitätsmutationen bei allen Chromosomen dieselbe ist. Es gibt Anzeichen, vor allem in den Untersuchungen von Berg (1937), daß die Verhältnisse bei Geschlechtschromosomen und Autosomen verschieden sein könnten (vgl. S. 531).

Eine geeignete, diese beiden Forderungen erfüllende Auskreuzung ist durchaus möglich, praktisch jedoch sehr umständlich und zeitraubend, besonders da noch kein Stamm mit dominant markierten, homozygot gut vitalen Inversionen für alle Chromosomen zur Verfügung steht.

Die vorliegende Arbeit umfaßt deshalb die Häufigkeitsbestimmung von Vitalitätsmutationen bei Geschlechtschromosomen und Autosomen, beschränkt sich jedoch auf eines der Autosomen, nämlich das 2. Chromosom. Die Bestimmung der Verhältnisse wurde für X- und 2. Chromosomen gleichzeitig, jedoch nicht getrennt durchgeführt; 3. und 4. Chromosom wurden nicht berücksichtigt.

Zur Mutationsauslösung wurden Röntgenstrahlen verwendet. Um die Beziehung der Mutationshäufigkeit der verschiedenen Mutationstypen zur Röntgendosis festzustellen, wurden drei verschiedene Dosen im Verhältnis 1:2:3 gewählt.

In einem ersten Experiment wurden für jede Dosis rund 500 bestrahlte und ebenso viele Kontrollchromosomen auf Vitalitätsmutationen untersucht. Die bei der Größe der erhaltenen Auszählungen sich ergebende Streuung ließ nur Mutationen erkennen, die die Vitalität um mehr als 20% verändern. Die experimentelle Anordnung entspricht ziemlich genau derjenigen von Timofeéff (1935).

Ein zweites Experiment wurde durchgeführt, um auch Mutationen mit sehr geringer Wirkung zu erfassen; für mittlere und höchste Dosis wurden je etwa 100 Chromosomen durch Aufzucht größerer Nachkommenzahlen (20, bzw. 10 Zuchten) genauer getestet. Diese Anordnung und die statistische Auswertung entspricht weitgehend den Experimenten von Kerkis (1938), mit dem Unterschied, daß Kerkis nicht wie in vorliegender Arbeit viele Paarzuchten *derselben* Generation auszählt, um statistisch verwertbares Zahlenmaterial zu erhalten, sondern pro Generation zwei Massenkulturen ansetzt und dann in der Hälfte der Fälle durch Weiterzucht und Auszählung in mehreren Generationen genauere Werte erhält (vgl. S. 530). Letztere Methode hat den Vorteil, daß die Weitervererbung einer aufgetretenen Mutation direkt beobachtet werden kann, den Nachteil jedoch, daß von einer Generation zur nächsten die Bedingungen (Umwelt und genetisches Milieu) stärker variieren und eventuell Spontanmutationen auftreten können.

II. Material und Methode.

1. Versuchsstamm.

Für alle Versuche wurden Tiere aus dem Wildstamm „Berlin-Inzucht" verwendet. Und zwar wurde, um möglichst einheitliches Material zu erhalten, ein Tier dieses Stammes mit dem Inversionsstamm (*M5/M5*; *Cy/BlL*) ausgekreuzt. Aus der F_1 wurde ein heterozygotes Tier (*M5/+*; *Cy/+*) geeignet weitergekreuzt und die isozygoten Nachkommen dieses einen Tieres, die alle dieselben X- und 2. Chromosomen tragen, für alle Versuche verwendet. Für jede Versuchsserie wurde die Isozygotie (die sich auf das X- und das 2. Chromosom beschränkt) zur Ausschaltung spontaner Mutationen neu hergestellt.

Die verwendeten Inversionschromosomen oder „balancer chromosomes" sind:
X-Chromosom: *M5* = *Muller 5* (sc^1 w^a *In* sc^8)
2. Chromosom: *Cy* = *Curly* (Crossingover-Häufigkeit wurde bestimmt und ergab weniger als 1%).

Als Markierungsmutanten des anderen 2. Chromosoms enthält der „Inversionsstamm" *Bl (Bristle)* und *L (Lobe)*.

2. *Bestrahlung.*

Es wurde bei 50 kV mit 1 mm-Aluminiumfilter bestrahlt. Die Bestrahlungsdauer betrug für 1-, 2- und 3fache Dosis $T_1 = 1^1/_2$, $T_2 = 3$ und $T_3 = 4^1/_2$ min. Für je $1^1/_2$ min besitzt die wirksame Strahlenmenge einen gleichbleibenden Wert, der nicht genau angegeben werden kann, jedoch in der Größenordnung von 2500 r liegt. Es zeigten sich nämlich Schwierigkeiten in der Dosimetrie, da nur ein Nahbestrahlungsapparat zur Verfügung stand, dessen Focusabstand sehr klein (etwa $1^1/_2$ cm), aber nicht genau bekannt war[1]. Da für die vorliegenden Untersuchungen nur die relativen Dosiswerte wichtig sind, wurde davon abgesehen, weitere genauere Bestimmungen durchzuführen.

3. *Futter.*

Die Fliegen wurden auf Normalfutter [Mais-Zucker-Agar mit Trockenhefe und Nipaginzusatz ($1^0/_{00}$ gegen Schimmelinfektion)] in kleinen Glastuben ($2^1/_2$ cm Durchmesser) gezüchtet. Wünschbar wären genau kontrollierte, ganz gleichmäßige Futterbedingungen gewesen. Praktisch ließ sich dies nicht durchführen, doch wurden Kulturen mit auffälliger Bakterien- oder Schimmelpilzinfektion ausgeschieden.

4. *Temperatur.*

Die Zuchttemperatur betrug $25 \pm 1^1/_2{}^0$ C; zur Auszählung wurden die Zuchten anfangs in Zimmertemperatur gebracht, später jedoch immer bei 25^0 ausgezählt oder in Alkohol gelegt, da sich eine große Abhängigkeit der *Cy*-Expressivität von der Temperatur zeigte. Die genaueren Untersuchungen ergaben dann, daß sich der *Cy*-Phänotyp nicht ausbildet (die *Cy*-Tiere also gradflüglig werden), wenn die Puppen während längerer Zeit vor dem Schlüpfen bei niederer Temperatur, z. B. 24 Std bei 17^0, oder 36 Std bei 20^0, gehalten werden.

5. *Kreuzung und Auszählung.*

Die Auskreuzung wurde nach folgendem Schema vorgenommen:

P_1: Bestrahlte oder für Kontrollen unbestrahlte Wildtypmännchen werden im Alter von maximal 4 Tagen sofort nach der Bestrahlung mit mehreren *M5*/*M5*;

[1] Die nachträgliche physikalische Messung zeigte einen mittleren Fehler von $\pm$ 2 mm; bei dem kleinen Abstand bewirken aber zusätzliche 4 mm ein Ansteigen der Dosis fast aufs Doppelte. Außerdem wurde (bei der kegelförmigen Strahlungsrichtung des verwendeten Apparates besonders ungünstig) für die zu bestrahlenden Fliegen ein Behältnis mit Seitenwänden aus Glas verwendet, wodurch die wirksame absolute Strahlenmenge verändert wird. Zur Beurteilung der absoluten Größe der wirksamen Dosis wurde deshalb im gleichen *Drosophila*stamm die Letalmutationsrate für das X-Chromosom nach Bestrahlung mit einem neuen Apparat bestimmt. Es ergaben sich 10,5 $\pm$ 1,5% Letale für 4000 r; dementsprechend wurde die Dosis T_2 auf rund 5000 r geschätzt, die einfache Dosis T_1 also auf 2500 r (und T_3 auf ca. 7500 r).

Cy/BlL-Weibchen einzeln angesetzt. Die Zuchten werden zweimal nach je 2 Tagen umgesetzt und die Männchen nach den ersten 4 Tagen eliminiert, um eine Beeinflussung der Mutationsrate durch germinale Selektion oder Bildung von „lethalclusters" auszuschließen.

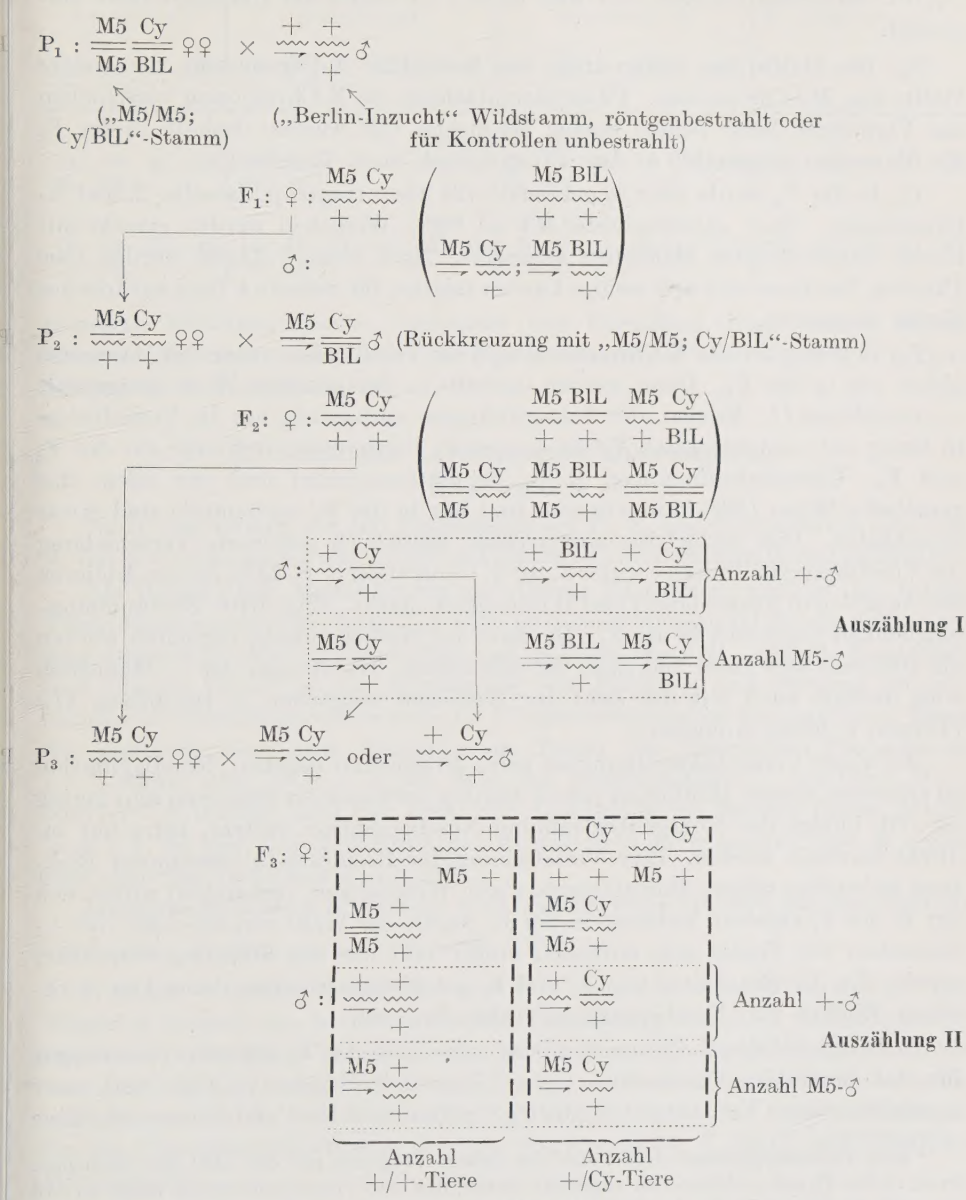

Abb. 1. Kreuzungsschema. ⋯⋯ Mendelklassen der Männchen, die zur Vitalitätsbestimmung des X-Chromosoms in F_2 und F_3 ausgezählt wurden: *Auszählung I und II*; |– – –| Mendelklassen „gradflüglig" oder „curly" bei allen Tieren der F_3 zur Vitalitätsbestimmung des 2. Chromosoms: *Auszählung III*. Nicht ausgezählte, noch zur Weiterzucht verwendete Typen in Klammern; Klasse der letalen *Cy/Cy*-Tiere in F_2 und F_3 nicht aufgeführt.

F_1: Jede der *M5*/+; *Cy*/+-Töchter der F_1 erhält vom Vater je ein anderes 2. und X-Chromosom, die bestrahlt worden sind und auf Mutationen geprüft werden sollen.

P_2: Je 10 (anfangs manchmal 20) solche Weibchen werden einzeln mit *M5*; *Cy*/*BlL*-Männchen rückgekreuzt und nach 3—4 Tagen auf frisches Futter umgesetzt.

F_2: Die Hälfte der Söhne trägt das bestrahlte X-Chromosom, die andere Hälfte das *M5*-Chromosom. Vitalitätsmutationen im X-Chromosom verschieben das Verhältnis dieser beiden Sorten Männchen. Es wurden deshalb in der F_2 die Männchen ausgezählt = *Auszählung I* (vgl. auch Tabelle 1).

P_3: In der F_2 wurde inter se gekreuzt; alle Tiere tragen je dasselbe 2. und X-Chromosom. Zwei unbefruchtete *M5*/+; *Cy*/+-Weibchen werden einzeln mit einem entsprechenden Männchen angesetzt. Nach etwa 5 Tagen wurden jene Pärchen, bei denen sich erst wenige Larven zeigten, für weitere 4 Tage auf frisches Futter umgesetzt.

F_3: In bezug auf das X-Chromosom sind die Verhältnisse unter den Männchen gleich wie in der F_2. Diese werden deshalb in der gleichen Weise ausgezählt = *Auszählung II*. Es sind also 2 Auszählungen vorhanden, um die Verhältnisse in bezug auf *ein* bestrahltes X-Chromosom zu bestimmen, und zwar aus der F_2 und F_3. Umweltsbedingungen (z. B. Populationsdichte) und vor allem das genetische Milieu (*BlL*-Chromosomen sind nur in der F_2 vorhanden) sind etwas verschieden. Dies erklärt die aufgetretene, statistisch gesicherte Verschiebung des Vitalitätsverhältnisses von der 2. zur 3. Generation (s. S. 516), die ein Addieren der Anzahlen in Auszählung I und II unmöglich macht. Eine dritte Bestimmungsmöglichkeit ergab sich in der F_3. Die Zahl der Weibchen kann errechnet werden als Differenz aus Total und Zahl der Männchen. Die Anzahl der +-Männchen wird deshalb auch mit der Zahl der Weibchen verglichen = *Auszählung IIa* (Tabelle 1, letzte Kolonne)[1].

Bei dieser Versuchsanordnung ist keine Möglichkeit gegeben, Nondisjunktion zu erkennen, dessen Häufigkeit jedoch bei den verwendeten Stämmen sehr gering ist. Ob infolge der Röntgenbestrahlung Nondisjunktion auftrat, kann nur indirekt beurteilt werden. Eine Verfälschung der Resultate in bestimmter Richtung (scheinbar höhere Mutationsrate als in Wirklichkeit vorhanden) würde sich nur in der F_2 ergeben, während in der F_3 wegen der Wahl von *M5- oder* von +-Männchen der Fehler sich aufheben müßte und nur die Streuung vergrößert würde. Da die Ergebnisse von F_2 und F_3 gut übereinstimmen, kann kein wirksamer Einfluß von Nondisjunktion vorhanden sein.

In bezug auf das 2. Chromosom sind alle Tiere der F_3 entweder homozygot für das bestrahlte Chromosom (+/+) oder heterozygot (+/*Cy*), und zwar normalerweise im Verhältnis 1:2 (die *Cy*/*Cy*-Tiere sind letal und fallen aus). Eine

[1] Eine Fehlermöglichkeit ergibt sich bei diesem Vergleich mit der Zahl der Weibchen, wenn in der P_3 ein +-Männchen angesetzt wurde, das eine Vitalitätsmutation trägt, so daß in der F_3 die Klasse der für das X-Chromosom homozygoten +/+-Weibchen beeinflußt wird. Deshalb wurden im allgemeinen immer dann *M5*-Männchen für das Ansetzen der P_3 vorgezogen, wenn nicht im Zeitpunkt des Ansetzens schon bedeutend mehr oder sogar nur +-Männchen geschlüpft waren, die somit sehr wahrscheinlich keine vitalitätsherabsetzende Mutation trugen.

Tabelle 1. *Auszählungsschema.* 2 Beispiele der Auszählungen in Experiment A.

F_2: X-Chromosom				F_3: X-Chromosom						F_3: 2. Chromosom						F_3: X-Chromosom		
2 Zuchten		Total		2 Paarkreuzungen		eventuell 2. Zucht		Total		2 Paarkreuzungen		eventuell 2. Zucht		Total		Berechnete Anzahl ♀		+-♂ im Verhältnis zu ♀
Auszählung I				Auszählung II						Auszählung III						♀ Auszählung IIa		
+	M5	+	M5	+	M5	+	M5	+	M5	+ / +	Cy / +	+ / +	Cy / +	+ / +	Cy / +			+
Kontrolle 13; KB 1.																		
24 / 21	19 / 16	45	35	28 / 23	20 / 13	—	—	51	33	24 / 29	57 / 62	35	76	78	195	162—84=78	51	78
Dosis T_1; 15; Q 7.																		
13 / 13	21 / 28	26	49	12 / 5	11 / 16	24	15	41	42	2 / =	45 / 50	=	80	2	175	179—87=92	41	92

rezessive Vitalitätsmutation verschiebt das Verhältnis dieser beiden Sorten Fliegen. Es werden deshalb in der F_3 die Anzahl der +/+- und +/*Cy*-Tiere festgestellt = *Auszählung III.*

III. Statistische Auswertung des Zahlenmaterials.

Experiment A.

Nach Bestrahlung mit den 3 Röntgendosen T_1, T_2 und T_3 wurden je rund 500 2. und X-Chromosomen gleichzeitig auf rezessive Vitalitätsmutationen untersucht.

Als Beispiel der Auszählungen aus diesem Experiment sind in den beiden Punktdiagrammen (Abb. 2 und 3, S. 516f.) die Auszählungen III für das 2. Chromosom dargestellt (Abb. 2: Kontrollen und mittlere Dosis T_2; Abb. 3: Kontrollen und höchste Dosis T_3). Zur Berechnung von *Mittelwert* und *Streuung* der verschiedenen Verhältniswerte wurde die *Winkeltransformation* durchgeführt: Wenn die Zahl der homo(bzw. hemi)zygoten Träger des bestrahlten Chromosoms (+/+-Tiere oder +-♂) = a, die Zahl der Vergleichstiere (+/*Cy*-Tiere, *M5*-♂ oder ♀) = b beträgt, und das Total der Auszählung als Summe beider Zahlen $= a + b$, so wird das Verhältnis $p = a:(a + b) = \sin^2\varphi$ gesetzt, und es ergibt sich also das Verhältnis $a:b = tg^2\varphi$.

Letzteres Verhältnis in Prozent wird üblicherweise als Maß für die Vitalität verwendet: Vitalitätsprozent $V = \frac{a}{b} \cdot 100\%$.

Normale Vitalität besteht für $a = b$, $V = 100\%$, $\varphi = 45^0$, $p = 0{,}5$. Der Winkel φ variiert von 0—90⁰, wenn das Verhältnis p von 0—1 variiert (und V von 0—∞). Bei dieser Transformation ist die Streuung von der absoluten Größe von φ unabhängig, so daß Werte verschiedener Größe zusammengerechnet werden können, was für die Verhältniswerte p selbst nicht gilt (und noch viel weniger für die Vitalitätsprozentwerte V; vgl. Mather 1949, S. 234ff. und briefliche Mitteilungen).

a) Verhältnisse bei den Kontrollen.

Die *Mittelwerte* der *Vitalitätsverhältnisse* (berechnet nach Winkeltransformation und Resultate umgerechnet in Vitalitätsprozente) der 4 Auszählungen ergaben folgendes:

	Auszählung I,	F_2, +-♂: *M5*-♂ in Prozent:	$118 \pm 1{,}6\%$
X-Chromosom	Auszählung II,	F_3, +-♂: *M5*-♂ in Prozent:	$135 \pm 1{,}6\%$
	Auszählung IIa,	F_3, +-♂: $^1/_2$-♀ in Prozent:	$106 \pm 1{,}2\%$
2. Chromosom	Auszählung III,	F_3, +/+: $^1/_2$(+/*Cy*) in Prozent:	$84 \pm 0{,}7\%$

Für das X-Chromosom sind also (wie auf S. 514 erwähnt) 3 verschiedene Auszählungen vorhanden, wovon 2 aus der gleichen Zucht stammen (II und IIa).

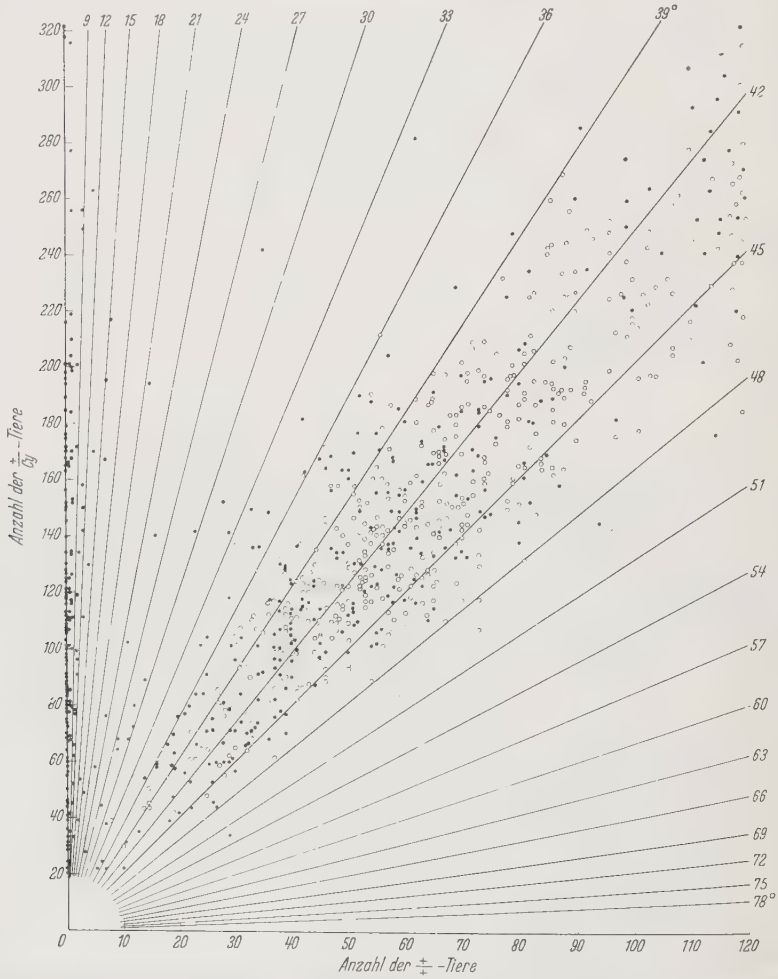

Abb. 2. Experiment A. Punktdiagramm. Auszählungen III für das 2. Chromosom, bei Klassenbildung von $\varphi = 3°$ nach Winkeltransformation. Abszisse: Anzahl der +/+-Tiere, Ordinate: Anzahl der +/*Cy*-Tiere (halber Maßstab, da normales Aufspaltungsverhältnis 1:2); ○○○○ Kontrollen, ···· Versuchsserie mit mittlerer Bestrahlungsdosis T_2.

Alle *3 Verhältnisse* sind statistisch *gesichert verschieden.* Deshalb wurden die 3 Verhältniswerte, die sich auf dasselbe getestete Chromosom beziehen, folgendermaßen *zusammengefaßt:*

Die Verhältniswerte von Auszählung I und II wurden entsprechend den Kontrollmittelwerten (proportional) korrigiert und auf das Verhältnis IIa umgerechnet. Aus diesen drei (korrigierten) Werten wurde das gewogene Mittel berechnet. Für die Frequenzdiagramme werden diese kombinierten Werte (in den Versuchsserien analog berechnet), deren Streuung bedeutend kleiner ist als diejenige der Einzelauszählungen, zugrunde gelegt.

Die *Bewertung* (zur Berechnung der gewogenen Mittel) wurde nach 2 verschiedenen Methoden durchgeführt:

1. Bewertung entsprechend dem Total $(a + b)$ der gezählten Tiere in F_2, bzw. F_3. Die so berechneten Werte sind in den Frequenzdiagrammen mit Klasseneinteilung entsprechend Winkel φ verwendet (vgl. S. 518).

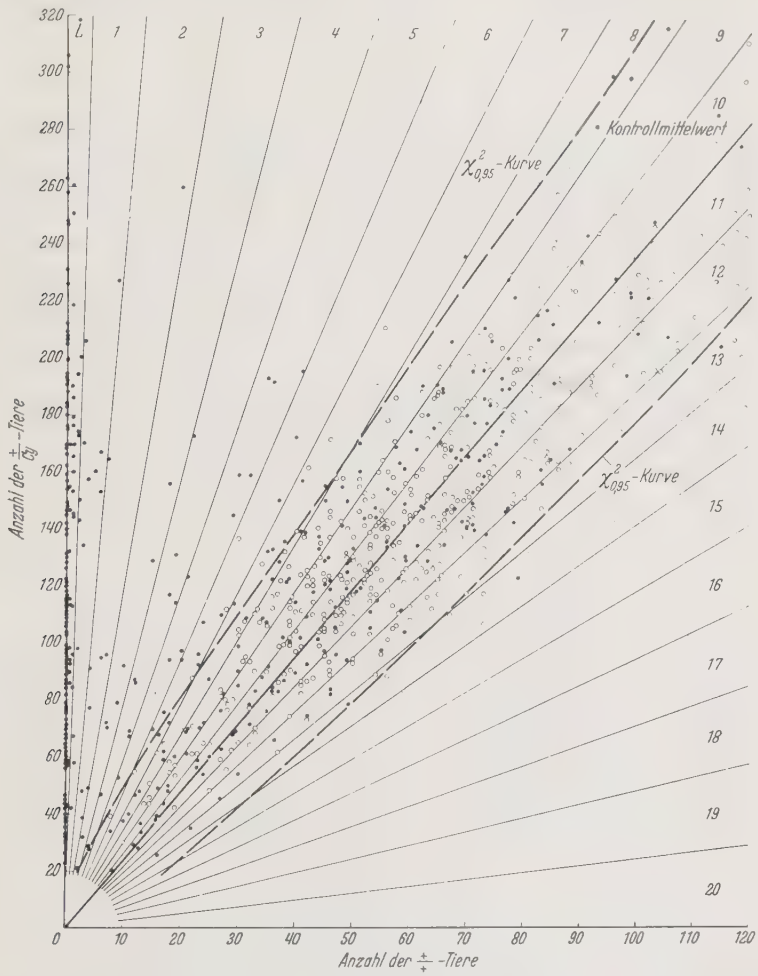

Abb. 3. Experiment A, Punktdiagramm. Auszählungen III für das 2. Chromosom, Einteilung in 10 %-Vitalitätsklassen und Lage der χ^2-Kurve. Abszisse: Anzahl der +/+-Tiere, Ordinate: Anzahl der +/*Cy*-Tiere. oooo Kontrollen, •••• Versuchsserie, Bestrahlung mit höchster Dosis T_3.

2. Zur Bewertung wurde nur die Anzahl der heterozygoten Vergleichstiere verwendet, die von rezessiven Vitalitätsmutationen nicht beeinflußt wird. Und zwar wurde (aus später, S. 522, erklärten Gründen) die Wurzel der entsprechenden Anzahl, also $\sqrt{b}$ als Gewicht gewählt.

Zur Berechnung der oben angegebenen Mittelwerte des Verhältnisses bei Kontrollen wurde ebenfalls eine Bewertung (nach 1. Methode: Total = Gewicht) durchgeführt. Es erwies sich dies deshalb als notwendig, weil die einzelnen Auszählungen sehr verschieden groß sind. Denn es wurde (s. S. 514), um möglichst gleiche Bedingungen zu bieten, die Zeit der Eiablage konstant gehalten (und nicht bis zur Erreichung einer bestimmten Individuenzahl weitergezüchtet, vgl. S. 529 u. 533). Die Anzahl der in dieser Zeit abgelegten Eier variiert ziemlich stark (abhängig von Fekundität des Weibchens, Befruchtungsfähigkeit

des Männchens, Futterbedingungen usw.). Deshalb sind die aus diesen Zahlen berechneten Verhältniswerte von verschiedener Genauigkeit und Wichtigkeit und können nicht ohne weiteres zusammengefaßt werden.

Eine Berechnung dieser gewogenen Mittelwerte innerhalb der Kontrollen, die alle verschiedene Einzelfälle aus einer gemeinsamen Grundgesamtheit sind, konnte ohne Bedenken durchgeführt werden. Anders liegen die Verhältnisse für die Versuchsserien.

b) Verhältnisse bei den Versuchsserien.

Die Versuchsserien sind sehr heterogene Gruppen. Ein bestimmter Anteil der Auszählungen, jene Fälle, in denen keine Mutationen auftraten, wird dasselbe mittlere Vitalitätsverhältnis aufweisen wie die Kontrollen (und wohl eine ähnliche Streuung). Die übrigen Auszählungen repräsentieren Fälle mit Vitalitätsmutationen verschiedenen Grades, welche im einzelnen nicht sicher von den anderen Fällen zu unterscheiden sind, da es sich ja um Einzelwerte handelt, deren Mittelwerte und Streuung unbekannt sind. Es wurde deshalb darauf verzichtet, Mittelwert und Streuung aus dem Total der verschiedenen Bestrahlungsserien zu berechnen, da diese Werte ohne reelle Bedeutung wären und nur bestätigen, daß Vitalitätsmutationen durch Röntgenstrahlen ausgelöst werden [wie es diese Berechnungen in der Arbeit von Timofeéff (1935) zeigen].

Verschiedene statistische Methoden wurden angewandt, um die Verhältnisse in den Versuchsserien zahlenmäßig zu erfassen und zu beurteilen.

1. Gruppieren der verschiedenen Auszählungen in Klassen gleichen Verhältnisses und Bestimmung der Klassenfrequenz.

Für die Klasseneinteilung ergaben sich folgende 2 Möglichkeiten:

α) *Klassen von $\varphi = 3^0$.* Die Winkeltransformation führte zu einer Klassenbildung entsprechend Winkel φ (Klassenbreite 3^0). In Abb. 2 (S. 516) ist der Verlauf dieser Klassengrenzen dargestellt und die Verteilung der Auszählungen III für das 2. Chromosom (Kontrollen und mittlere Dosis T_2) auf diese Klassen ist daraus ersichtlich. Die breiten Klassen für mittlere Werte bewirken, daß in wenigen Klassen (nämlich den 4 Klassen von 36—48^0) sozusagen alle Kontrollwerte liegen.

In Abb. 4 und 5 (S. 519) ist in Form eines Häufigkeitsdiagrammes die Verteilung aller Einzelwerte auf die Klassen von 3^0 dargestellt (Tabelle 2, gibt die entsprechenden

Tabelle 2. *Häufigkeitsverteilung der geprüften Chromosomen auf Klassen von 3^0 nach Winkeltransformation* (ohne Bewertung).
Prozentberechnung nach Subtraktion der Letalen 0—9^0.

	Winkel in Grad																
	0—9	—12	—15	—18	—21	—24	—27	—30	—33	—36	—39	—42	—45	—48	—51	—54	57
X-Chromosom, gewogenes Mittel aus Auszählungen I, II und IIa.																	
Kontrolle	0,2							0,2		0,5	0,5	2,4	25,0	53,8	15,6	2,1	
Dosis T_1	5,4	0,2	0,4					0,9	0,7	0,4	0,4	4,5	27,9	48,9	14,4	1,1	
T_2	11,4		0,3				0,5	0,3	0,5	0,8	1,6	5,0	24,1	46,2	18,1	2,1	0,5
T_3	16,3	1,1	0,3		0,3	0,6	1,1		1,1	0,6	2,2	6,6	24,6	46,5	13,0	1,6	0,3
2. Chromosom.																	
Kontrolle									0,2	1,9	8,1	34,2	39,5	14,4	1,6		
Dosis T_1	13,7	1,2	0,5	0,5	0,5	0,5		2,0	0,2	2,0	10,4	26,7	42,2	12,1	1,0	0,2	
T_2	29,0	4,7	1,2	1,6	0,3	0,9	0,6	2,8	0,9	4,4	13,1	27,5	30,3	10,6	0,6	0,3	
T_3	34,0	3,0	1,8	1,8	0,7	2,6	2,6	3,3	3,7	5,9	12,9	27,3	24,0	9,2	1,6		

Zahlenwerte). Um für vitalitätsvermindernde Mutationen bei Kontrollen und verschiedenen Bestrahlungsdosen eine vergleichbare Ausgangsbasis zu erhalten, wurde zur Berechnung der Klassenfrequenzen jeweils zuerst die Anzahl der Letalfaktoren subtrahiert (und der Rest

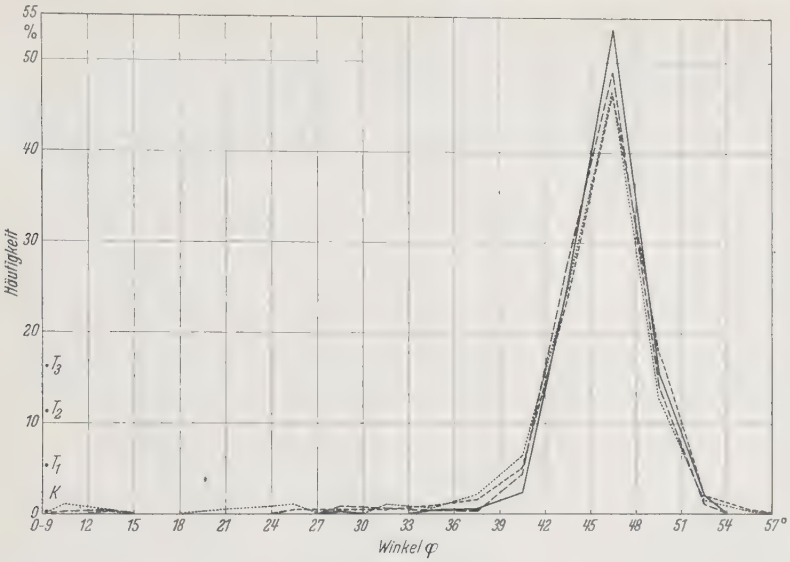

Abb. 4.

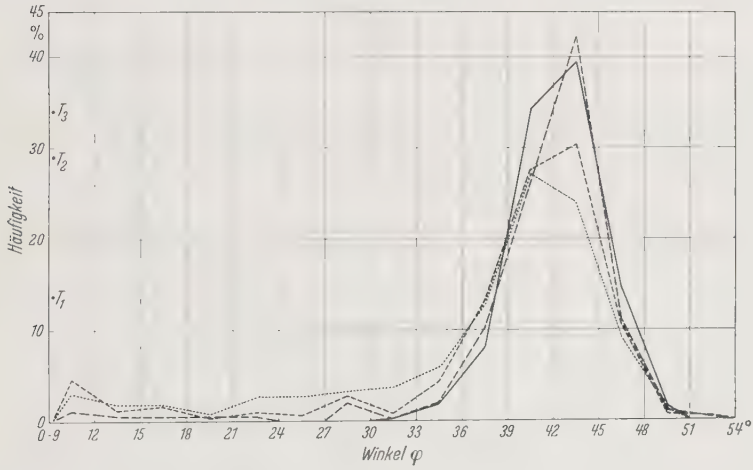

Abb. 5.

Abb. 4 u. 5. Experiment A, Häufigkeitsdiagramm nach Winkeltransformation ohne Bewertung. Klassen von $\varphi = 3°$; Prozentberechnung nach Subtraktion der Letalen 0—9°. Abszisse: Winkel φ in Grad, Ordinate: Prozentuale Häufigkeit der geprüften Chromosomen. ——— Kontrollen, — — — niederste Dosis T_1, - - - - mittlere Dosis T_2, · · · · · höchste Dosis T_3. Abb. 4. X-Chromosom, Abb. 5. 2. Chromosom.

gleich 100% gesetzt, vgl. S. 528). Für die Summendarstellung (Abb. 6 und 7, S. 520), bei der vom Nullpunkt aus fortlaufend alle Häufigkeiten summiert werden (Summe 100%), mußte die normale Prozentberechnung (einschließlich Letale) durchgeführt werden. In diese Darstellung wird die normale Fehlerkurve zu einer Sigmoide mit Symmetrieachse durch den Wert 50%, was für die Kontrollen angenähert der Fall ist.

Die Grenzen der Vitalitätsstufen (s. S. 509) ergaben in Grad umgerechnet folgende Werte:

	X-Chromosom $\varphi°$	(angenähert) %	2. Chromosom $\varphi°$
Letal	0— 9	0 bis $2^1/_2$	0— 9
Semiletal.	9—33	$2^1/_2$ bis 50	9—30
Subvital	33—42	50 bis 80	30—39

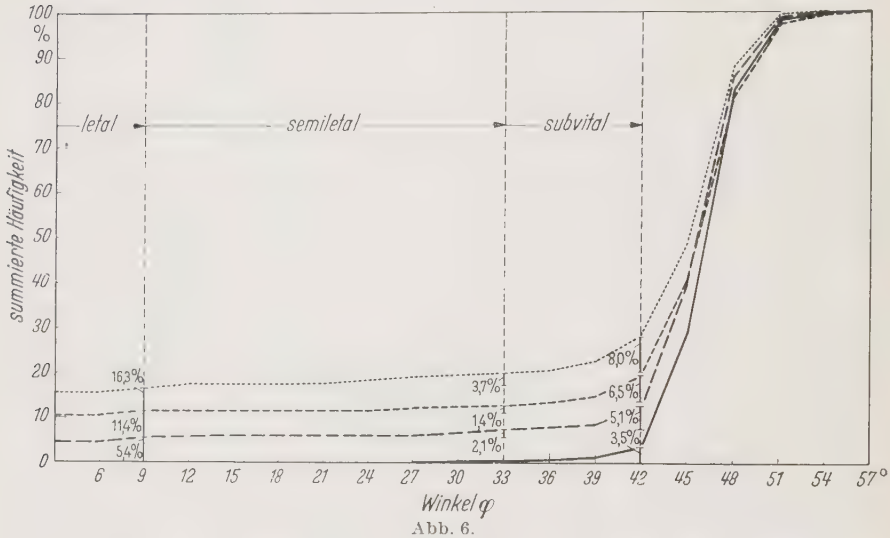

Abb. 6.

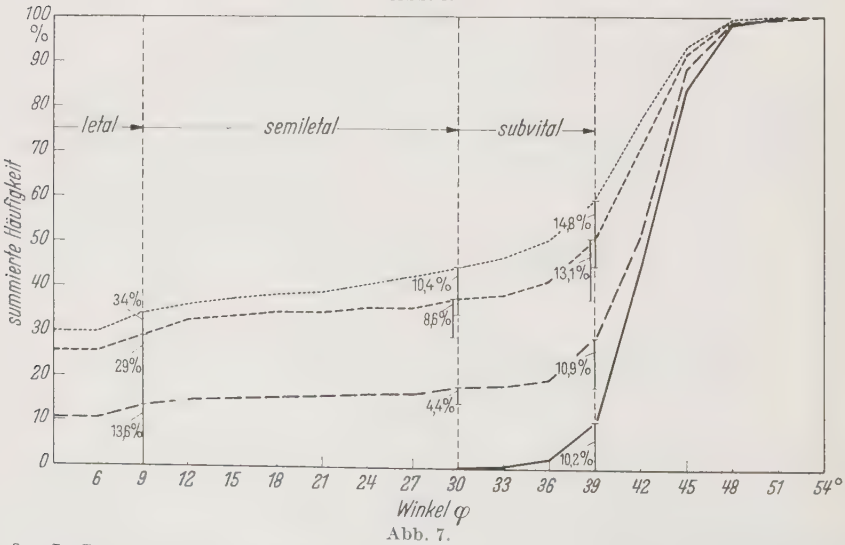

Abb. 7.

Abb. 6 u. 7. Summendarstellung der Frequenz der verschiedenen Vitalitätsklassen. Klassen von 3° nach Winkeltransformation. Prozentberechnung einschließlich Letale und fortlaufende Summation. —— Kontrollen, — — Dosis T_1, - - - - Dosis T_2, · · · · Dosis T_3. Die unter den Kurven stehenden Zahlen geben die summierten Prozentwerte für Auszählungen des letalen, semiletalen und subvitalen Bereiches an. Abb. 6 X-Chromosom, Abb. 7 2. Chromosom.

Die Grenzen sind verschieden für das 2. und das X-Chromosom, weil die Mittelwerte der zugehörigen Kontrollen verschiedene Größe aufweisen. Bei der Berechnung dieser Häufigkeitswerte wurde keine Bewertung durchgeführt, da alle Auszählungen, wenn auch

verschieden groß und deshalb von verschiedener Genauigkeit, je die Verhältnisse auf *einem* Chromosom darstellen und in diesem Sinne gleichwertig sind. Gegen eine Bewertung spricht ebenfalls folgender Befund:

Es wurde eine Gruppierung der Auszählungen nach ihrer Größe (und zwar entsprechend der von Vitalitätsmutationen unbeeinflußten Anzahl der Vergleichstiere) in drei Gruppen durchgeführt, und die Häufigkeit von Fällen in jeder Vitalitätsstufe berechnet (s. Tabelle 3, unten). Wie erwartet zeigt sich, daß die kleineren Auszählungen eine bedeutend größere Streuung aufweisen als die größeren (mehr Fälle liegen zufallsmäßig im Bereich der Sub- und Supervitalen). Daneben aber deutet der größere Prozentsatz von Letalen (und Semiletalen) bei den kleinsten Auszählungen wohl darauf hin, daß die Allgemeinvitalität in Zuchten, in denen stark schädigende Mutationen aufgetreten sind, häufig relativ kleiner ist. Dies spricht gegen eine Bewertung, die die Tatsachen verfälschend, die Mutationshäufigkeit zu klein erscheinen ließe*.

β) Klassen von 10 Vitalitätsprozent. Als normale Vitalität (100%) wird der Mittelwert aus den Kontrollen festgelegt. Abb. 3 (S. 517) zeigt die Einteilung in 20 Klassen von 10%, ausgehend vom Mittelwert der Kontrollen für die Auszählungen III, 2. Chromosom. Die Wahl einer solchen Klasseneinteilung war nahegelegt durch die Definition der verschiedenen Vitalitätsstufen (s. S. 509), vor allem der 50%-Grenze zwischen Semiletalen und Subvitalen. Dadurch, daß die Einteilung auf den Mittelwert der Kontrollen bezogen wird, ergibt sich eine für alle vier Auszählungen (I, II und IIa für das X-Chromosmo, III für das 2. Chromosom)

Tabelle 3. *Frequenz der Vitalitätsstufen in Kulturen mit kleiner, mittelgroßer und großer Nachkommenzahl in Prozenten.*

Gruppen entsprechend Auszählungsgröße: klein . . . . . mittelgroß . . . . . groß		X-Chromosom: 15—50 M5-Männchen 51—85 M5-Männchen über 85 M5-Männchen				2. Chromosom: 20—100 +/Cy-Tiere 101—200 +/Cy-Tiere über 200 +/Cy-Tiere			
Vitalitätsstufe	Größe	Dosis							
		K	T_1	T_2	T_3	K	T_1	T_2	T_3
Letal[1]	klein	—	18,7	19,1	27,3	—	15,8	40,6	40,0
	mittel	0,5	2,4	12,0	14,1	—	20,4	28,1	31,9
	groß	—	4,8	7,3	9,2	—	14,7	25,9	38
Semiletal[2]	klein	—	7,7	6,6	9,6	1,4	8,9	16,3	25,8
	mittel	0,9	1,9	2,2	4,8	—	2,8	6,3	12,8
	groß	—	1,3	—	4,6	—	3,8	5	6,5
Subvital[2]	klein	10	12,3	11,3	16,9	25,1	15,8	21,7	25,8
	mittel	6,1	6,8	6,6	12,3	13,9	13,9	20,7	19,9
	groß	6,4	10,8	18,0	11,9	5,1	8,2	9,3	16,0
Normal[2]	klein	67,0	70,8	67,0	60,2	61,9	59,4	55,4	37,6
	mittel	86,8	84,0	82,0	79,5	76,6	77,4	64,4	63,8
	groß	93,6	87,3	80,9	83,5	91,0	86,6	82,5	68,8
Supervital[2]	klein	23,0	9,2	15,1	13,3	11,6	15,8	6,5	10,8
	mittel	6,1	7,3	9,3	3,4	9,4	5,9	8,6	3,5
	groß	—	0,6	1,1	—	3,8	—	—	—
Absolutes Total	klein	67	111	140	124	68	120	155	155
	mittel	217	200	215	182	287	291	242	207
	groß	113	138	87	94	78	61	54	50

[1] In Prozenten der Gesamtzahl (absolutes Total).
[2] Prozentberechnung nach Subtraktion der Letalen.

* Durch die Aufteilung werden die zugrunde liegenden Zahlen bei dieser Tabelle ziemlich klein, was sich in einer gewissen Unregelmäßigkeit ausdrückt, z. B. in der Gruppe der Subvitalen (außer Auszählungsgruppe „groß", 2. Chromosom). Einige Gesetzmäßigkeit (Ansteigen mit der Dosis) zeigen die Häufigkeiten von Letalen und Semiletalen, gar keine die Supervitalen, die in diesem Experiment A überhaupt nicht erfaßt werden können; denn ihre Abweichung ist wohl kaum je über 20% und ihre Häufigkeit gering.

Tabelle 4. *Häufigkeitsverteilung der geprüften Chromosomen auf die 20 Vitalitätsklassen* (nach Bewertung). Prozentberechnung nach Subtraktion der Letalen.

	Vitalitätsklasse															
	L	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
X-Chromosom: Mittelwert aus Auszählungen I, II und IIa.																
Kontrolle .	0,2				0,2	0,4	0,2	0,9	5,3	19,2	30,3	24,9	14,3	3,1	0,8	0,2
Dosis T_1 . .	4,0	1,7		0,9	0,7	0,3	0,5	3,1	5,3	21,6	27,7	22,3	11,6	3,9	0,6	
T_2 . .	11,0	1,3		0,3	0,3	0,8	1,7	0,8	8,4	17,1	23,7	25,6	12,0	6,4	1,6	
T_3 . .	14,4	2,1	0,9	1,6	0,4	0,6	0,6	3,9	8,6	13,6	24,3	28,5	11,3	2,9	0,9	
2. Chromosom.																
Kontrolle .						0,1	0,7	2,9	9,0	16,5	20,8	23,8	17,7	6,6	1,6	0,2
Dosis T_1 . .	12,2	1,6	0,9	0,3	1,7	0,2	1,0	3,7	8,9	14,6	20,3	26,9	13,5	5,2	1,1	0,2
T_2 . .	27,5	6,3	1,1	1,2	2,3	0,9	3,2	6,3	8,6	13,5	21,1	16,9	12,4	5,1	0,9	0,2
T_3 . .	34,0	4,9	2,9	2,3	3,0	3,7	3,8	10,9	6,4	14,7	19,4	14,3	8,6	4,0	1,0	

genau entsprechende und vergleichbare Verteilung auf die verschiedenen Klassen (unabhängig von den durch die zufällige Wahl des Vergleichschromosoms gegebenen Verhältnissen).

Tabelle 4 (oben) gibt die Verteilung der Häufigkeiten auf die verschiedenen Klassen an. Bei dieser 2. Klasseneinteilung wurde nun im Gegensatz zur ersten für die Berechnung der Häufigkeiten eine Bewertung durchgeführt, und zwar wurde nach der zweiten oben (S. 517) angeführten Methode bewertet. Als Gewicht wird also für jede Auszählung die Wurzel aus der Anzahl der Vergleichstiere gewählt (X-Chromosom: Wurzel aus der Anzahl der *M5*-Männchen, 2. Chromosom: Wurzel aus der Anzahl der $+/Cy$-Tiere). Denn jeder dieser Verhältniswerte repräsentiert das Vitalitätsverhältnis eines bestimmten Chromosoms, dessen Mittelwert und Streuung nicht berechnet werden können, da ja nur eine „Messung" vorhanden ist. Letztere wird um so näher beim wirklichen (Mittel-) Wert liegen, je größer die dem berechneten Vitalitätsverhältnis zugrunde liegende Auszählung ist. Die Streuung von Einzelwerten, die berechnet wird als $\sigma = \sqrt{\frac{[VV]}{n}}$ (V = wahre Abweichung) gibt ein Maß für den mittleren Fehler und die Genauigkeit ist also proportional $\sqrt{n}$. Deshalb wurden diese im Frequenzdiagramm verwendeten Einzelwerte entsprechend ihrer Genauigkeit mit $\sqrt{b}$ bewertet.

Tabelle 5. *Frequenz der 5 Vitalitätsstufen* (addiert aus Tabelle 4) *und Berechnung der Mutationshäufigkeiten als Differenz zwischen Versuch und Kontrolle.*

Letale: In Prozent des Totals, Vitalität 0—$2^1/_2$%.
Prozentberechnung der übrigen Gruppen nach Subtraktion der Letalen.
Semiletale: Berechnet als Summe der Vitalitätsklassen 1—5, Vitalität $2^1/_2$—50%,
Subvitale: Klassen 6—8, Vitalität 50—80%,
Normale: Klassen 9—12, Vitalität 80—125%,
Supervitale: Klassen über 12, Vitalität über 125%.

Dosis	Letal		Semiletal		Subvital		Normal		Supervital	
	%	Differenz	%	Differenz	%	Differenz	%	Differenz	%	Differenz
X-Chromosom.										
Kontrolle	0,2		0,6		6,4		88,7		4,1	
T_1	4,0	+ *3,8*	3,6	+ *3,0*	8,9	+ *2,5*	84,6	— 4,1	4,5	+ *0,4*
T_2	11,0	+ *10,8*	2,7	+ *2,1*	10,9	+ *4,5*	78,9	— 9,8	8,0	+ *3,9*
T_3	14,4	+ *14,2*	5,6	+ *5,0*	13,1	+ *6,7*	77,7	—11,0	3,8	—0,3
2. Chromosom.										
Kontrolle	—		0,1		12,6		78,8		8,4	
T_1	*12,2*		4,7	+ *4,6*	13,6	+ *1,0*	75,3	— 3,5	6,5	—1,9
T_2	*27,5*		11,8	+ *11,7*	18,1	+ *5,5*	63,9	—14,9	6,2	—2,2
T_3	*34,0*		16,8	+ *16,7*	21,1	+ *8,5*	57,0	—21,8	5,0	—3,4

Aus Tabelle 4 (S. 522) wurden die Häufigkeitswerte für jede Vitalitätsstufe berechnet, indem die Häufigkeiten der verschiedenen Klassen, zu einer Vitalitätsstufe zusammengefaßt, addiert wurden (s. Tabelle 5).

Mutationshäufigkeiten. Die positive Differenz, die sich für Letale, Semiletale und Subvitale zwischen Versuch und Kontrollen ergibt, wird als Mutationshäufigkeit betrachtet. Auf genau die gleiche Weise wurde aus der Häufigkeitsverteilung auf Klassen von 3° (nach Winkeltransformation) die Mutationshäufigkeit berechnet (vgl. Zusammenstellung, Tabelle 8 und 9, Experiment A, a und b)[1].

2. Häufigkeiten außerhalb der χ^2-Kurve.

Für jedes Verhältnis $a:b = \lambda$, $(a + b = N)$, kann das zugehörige $\chi^2 = \frac{(a - \lambda b)^2}{\lambda N}$ berechnet werden. λ ist bestimmt als Mittelwert der Kontrollen. Für ein χ^2, das einer Wahrscheinlichkeit $P = 0{,}95$ entspricht, beträgt dieser Wert 3,814; d. h., wenn die Verhältnisse eine Normalverteilung repräsentieren, ist bei 95% der Fälle χ^2 kleiner als 3,814, oder bei Darstellung im Punktdiagramm (s. Abb. 3, S. 517) liegen 95% der Werte innerhalb der χ^2-Kurve[2].

Die Prozentsätze der Fälle außerhalb der χ^2-Kurven wurden bestimmt und die wahrscheinliche Mutationshäufigkeit wiederum als Differenz zwischen Versuch und Kontrolle berechnet. Tabelle 6, S. 517, zeigt alle festgestellten Häufigkeiten außerhalb der χ^2-Kurven, und zwar in der ersten Kolonne den Prozentsatz der Fälle, die im Punktdiagramm *links* außerhalb der Kurve liegen. Diese Gruppe enthält also die Letalfaktoren. Wenn diese subtrahiert werden, ergeben sich die Werte der zweiten Kolonne, die nur noch Semiletale und Subvitale umfaßt, neben wenigen Normalen, die große Zufallsstreuung aufweisen. Die letzte Kolonne zeigt entsprechend die Häufigkeit der Punkte *rechts* außerhalb der Kurven, die 3. Kolonne das Gesamttotal. Für Kontrollen sollte dieses (sofern keine Spontanmutationen aufgetreten sind) 5% betragen, was angenähert der Fall ist (2. Chromosom 4,3%, X-Chromosom 6,5%).

Bei diesem Verfahren ist eine Trennung von Semiletalen und Subvitalen unmöglich, die deshalb als Mutationen mit vitalitätsvermindernder Wirkung zusammengefaßt werden. (Wahrscheinliche Mutationshäufigkeit: s. Tabelle 8 und 9, S. 528 und 529, Experiment A, c.)

Es mußten die drei Auszählungen für das X-Chromosom (Auszählungen I, II und IIa) getrennt berechnet werden, so daß sich immer drei entsprechende Werte ergaben (s. Tabelle 6). Es wurde ein t-Test durchgeführt, um die Abweichungen von den Kontrollen zu beurteilen. Gesicherte Unterschiede ergaben sich für Fälle mit verminderter (P bei allen Dosen größer als 0,95), nicht aber für solche mit erhöhter Vitalität (P kleiner 0,90, außerdem alle Differenzen negativ).

Diese drei Serien je von Auszählung I, II und IIa weisen natürlich viel größere Streuung auf als die sonst verwendeten, für das X-Chromosom berechneten Kombinationswerte aus den drei Auszählungen jedes getesteten Chromosoms. Diese Zahlen für das X-Chromosom haben deshalb geringere Bedeutung.

Um die *absolute Anzahl* der vitalitätsvermindernden Mutationen, die mit bestimmter Wahrscheinlichkeit auftraten, *direkt* zu berechnen, wurde folgende Methode verwendet, die aus obiger Beziehung für χ^2 abgeleitet ist (VAN DER WAERDEN, briefliche Mitteilung). Es wird die Verteilung der Werte φ über- und unterhalb eines Mittelwertes φ_0 betrachtet. Von n geprüften Chromosomen weisen x einen Wert $\varphi < \varphi_0$ auf und y einen Wert $\varphi > \varphi_0$ $(x + y = n$, für die Kontrollen entsprechend $x_0 + y_0 = n_0)$. Die Frage lautet: Wieviele die Sterblichkeit erhöhende Mutationen sind gesichert? Wenn die Anzahl solcher Mutationen m beträgt,

[1] Diese Berechnungen sind statistisch nicht einwandfrei, da der Unterschied zwischen der Häufigkeitsverteilung bei Kontrollen oder bei Versuchen nicht nur durch Unterschiede der Mittelwerte (wenn Mutationen auftraten), sondern auch der Streuungen bewirkt wird. Die hier angewandte Berechnung stellt also nur einen behelfsmäßigen Versuch zur Schätzung der Mutationshäufigkeiten dar.

[2] Die Kurvenpunkte werden aus der Beziehung für χ^2 folgendermaßen bestimmt: für jedes beliebige b kann a berechnet werden (2 zugehörige Werte) nach der Gleichung $a = N - b$ und

$$N = b(1 - \lambda) + \left(\frac{\lambda}{2} \cdot \chi^2\right) \pm \sqrt{b(1 + \lambda)(\lambda \cdot \chi^2) + \left(\frac{\lambda \cdot \chi^2}{2}\right)^2}.$$

Tabelle 6. *Häufigkeiten außerhalb der $\chi^2_{0,05}$-Kurve.*

	Vitalität kleiner als normal		Total	Vitalität größer
	Total (letal, semiletal und subvital)	Letalfaktoren subtrahiert (semiletal und subvital)		
	%	%	%	%
	2. Chromosom.			
Kontrolle . .	1,6	1,6	4,3	2,7
Dosis T_1 . .	20,9	6,3	22,4	1,5
T_2 . .	42,1	9,9	43	0,9
T_3 . .	48,9	13,0	49,4	0,5

X-Chromosom.
Auszählungen I, II und IIa; t-Test zur Beurteilung des Unterschiedes zwischen Versuch und Kontrolle.

Kontrolle	I	4,7	Mittel 3,6	4,5	Mittel 3,4	Mittel 6,5	1,1	Mittel 2,8
	II	2		1,8			2,6	
	IIa	4,2		3,9			4,8	
Dosis T_1	I	10,9	Mittel 10,4	6,3	Mittel 5,8	Mittel 11,9	1,1	Mittel 1,5
	II	8,7		4,3			1,3	
	IIa	11,5		6,9			2,2	
t				2,24			1,15	
P				0,956			0,83	
Dosis T_2	I	18	Mittel 16,9	5,0	Mittel 5,3	Mittel 18,6	2,8	Mittel 1,7
	II	15,4		4,9			1,4	
	IIa	17,3		5,9			0,9	
t				2,33			1,37	
P				0,96			0,87	
Dosis T_3	I	21,1	Mittel 21,4	7,2	Mittel 8,0	Mittel 23,7	4,0	Mittel 2,3
	II	19,1		7,1			1,0	
	IIa	24		9,6			1,8	
t				4,142			0,357	
P				0,993			0,63	

bleiben $n' = n - m$ Nichtmutationen. Davon haben y einen Winkelwert φ über φ_0, und mindestens $x' = n' - y = x - m$ einen Winkel unter φ_0. Es wurde nun m so bestimmt, daß $\frac{x'}{n'} - \frac{x_0}{n_0} < g \cdot \sigma$; für g wurden 2 Werte gewählt (g^2 entspricht χ^2), so daß die Wahrscheinlichkeit einer rein zufälligen Überschreitung: 1. nach einer Richtung 1% ist, nach beiden Richtungen zusammen also 2%: $g_{0,02} = 2{,}326$, und 2. im Total 5% beträgt, $g_{0,05} = 1{,}96$. Die Streuung der Differenz $\frac{x'}{n'} - \frac{x_0}{n_0}$ ist durch $\sigma^2 = \frac{pq}{n'} + \frac{pq}{n_0}$ gegeben, wobei p und q unter der Annahme berechnet werden, daß die Differenz rein zufällig ist: $p = \frac{x_0 + x'}{n_0 + n'}$, $q = \frac{y_0 + y'}{n_0 + n'}$ und $p + q = 1$.

Es ergaben sich jedoch nur Resultate bei den Serien mit größerer Anzahl Mutationen, nämlich für das X-Chromosom in der Serie mit der höchsten Bestrahlungsdosis T_3 und für das 2. Chromosom in den Serien mit Dosis T_2 und T_3. Um die kleineren Mutationshäufigkeiten in den anderen Serien zu erfassen, war die Zahl der geprüften Chromosomen zu klein.

So wurden folgende Anzahlen vitalitätsvermindernder Mutationen errechnet (letal Vitalität kleiner 3%):

	$g_{0,02}$	$g_{0,05}$	Letal	Total
X-Chromosom ($\varphi_0 = 45°$), Dosis T_3 . .	14	20	62	425
2. Chromosom ($\varphi_0 = 43°$), Dosis T_2 . .	25	33	131	436
Dosis T_3 . .	75	78	140	406

Der Vergleich der so berechneten Anzahl der vitalitätsvermindernden Mutationen mit den Letalen zeigt, daß letztere 2—3mal häufiger zu sein scheinen.

Experiment B.

Für dieses Experiment wurden die gleichen Kreuzungen durchgeführt wie für Experiment A. Jedoch wurde die F_2 in größeren Futterflaschen gezüchtet und nicht ausgezählt. Aus jeder F_2-Flasche wurden 10 (Dosis T_3) oder 20 (Dosis T_2) Geschwisterpärchen, die in bezug auf die bestrahlten Chromosomen genetisch identisch sind, angesetzt. In der F_3 wurden so je 10 bzw. 20 Werte für Auszählung II, IIa und III erhalten. II und IIa wurden wieder entsprechend ihren Kontrollmittelwerten korrigiert und das gewogene Mittel bestimmt. Für alle Berechnungen

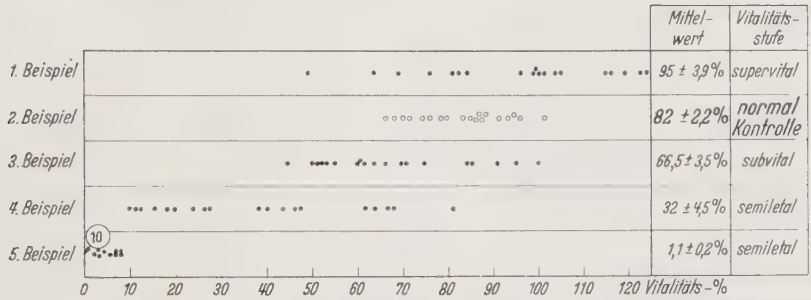

Abb. 8. Experiment B, Beispiele. Streuung der 20 Einzelauszählungen für die Vitalitätsbestimmung eines geprüften Chromosoms. Bewertung entsprechend Total jeder Einzelauszählung; 2. Chromosom, ○○○○ Kontrollen, •••• Dosis T_2; (10) = 10 Einzelauszählungen mit Vitalität 0 %.

wurde die Winkeltransformation durchgeführt. Die Bewertung wurde entsprechend dem Total jeder Auszählung gewählt. Die Durchführung der Bewertung ist hier statistisch gerechtfertigt und einwandfrei, da sie nur innerhalb jeder Gruppe von 10 bzw. 20 Einzelauszählungen, die genetisch einheitliche Grundlagen besitzen, angewendet wird. Die 10 oder 20 Auszählungen sind in diesem Fall Beispiele aus einer statistischen Grundgesamtheit, und ihre Streuung ist um so größer, je kleiner die betreffenden Einzelauszählungen sind. Die Verteilung von Einzelwerten ist für einige Beispiele im Diagramm der Abb. 8 (oben) dargestellt. So konnte für jedes getestete Chromosom *Mittelwert* und *Streuung* des *Vitalitätsverhältnisses* berechnet werden.

Kontrollmittelwerte. In der Serie mit mittlerer Bestrahlungsdosis wurden 10 Kontrollchromosomen (je 20 Auszählungen), in der Serie mit höchster Dosis 13 Chromosomen (je 10 Auszählungen) getestet. Die Gesamtmittelwerte wurden aus diesen 200, bzw. 126 Einzelwerten berechnet und ergaben (in Prozent umgerechnet):

	(Dosis T_2)	(Dosis T_3)
X-Chromosom. .	$105 \pm 2{,}5\,\%$	$109 \pm 2{,}4\,\%$
2. Chromosom .	$86 \pm 2{,}4\,\%$	$83 \pm 2{,}3\,\%$

Dabei zeigte sich, daß der Gesamtmittelwert einen kleineren mittleren Fehler aufweist als fast alle Einzelmittelwerte der Auszählungen eines bestimmten Chromosoms. Dies bestätigt, daß die Kontrollen eine einheitliche Gruppe bilden.

Für alle getesteten *Versuchschromosomen* (ca. 100 mit Dosis T_2, ca. 80 mit Dosis T_3) wurde die Abweichung vom Kontrollmittelwert (M_0) berechnet

Tabelle 7. *Experiment B. Wahrscheinliche Häufigkeit von Mutationen.*

	Letal %	Semiletal %	Subvital %	(Normal) %	Supervital %	(Total) absolute Anzahl
			$P = 0{,}95$.			
X-Chromosom						
Dosis T_2	5,0	—	16,0	(78,0)	1,0	(100)
T_3	16,7	10,7	6,0	(65,5)	1,2	(84)
2. Chromosom						
Dosis T_2	16,2	9,6	17,1	(56,2)	1,0	(105)
T_3	34,6	11,1	14,8	(38,3)	1,2	(81)
			$P = 0{,}99$.			
X-Chromosom						
Dosis T_2	5,0	—	4,0	(91,0)	—	
T_3	21,4	6,0	5,6	(67,0)	—	
2. Chromosom						
Dosis T_2	19,5	6,7	7,6	(66,2)	—	
T_3	40,7	4,9	7,4	(47,0)	—	

(Differenz $D = M_0 - M$) und der zugehörige *mittlere Fehler der Differenz* m_D $\sqrt{m^2 + m_0^2}$ bestimmt (m = mittlerer Fehler $\frac{\sigma}{\sqrt{n}}$, m_0 = mittlerer Fehler des Kontrollmittelwertes M_0).

In Abb. 9 und 10 sind alle Fälle eingetragen mit Mittelwert (Abszisse) und m_D (Ordinate). Ausschlaggebend dafür, ob eine Abweichung als statistisch gesichert betrachtet werden kann, ist das Verhältnis der Differenz $D : m_D$. Die Grenzwerte $D = 2 \cdot m_D$ ($P = 0{,}95$) und $D = 3 \cdot m_D$ ($P = 0{,}996$) bilden 2 Geraden, je zu beiden Seiten des Kontrollmittelwertes. Fälle mit schwach gesicherter Abweichung vom Kontrollmittelwert liegen zwischen beiden Geraden, solche mit stark gesicherter Abweichung außerhalb der $3 \cdot m_D$-Geraden. Für Werte kleiner als 50% Vitalität wurde entsprechend untersucht, ob die Abweichung von letal gesichert sei.

Die Genauigkeit ist infolge der doppelten Zahl von Einzelauszählungen für die Serie der Dosis T_2 (Abb. 9) bedeutend größer. Es können im besten Fall schon Abweichungen von 6—8% gesichert werden, und fast alle Fälle, deren Abweichung statistisch nicht erfaßbar (zum großen Teil eben nur zufällig, wo keine Mutationen aufgetreten sind) ist, liegen (beim 2. Chromosom) im Bereich $\pm$ 8% um den Kontrollmittelwert.

Die Mutationshäufigkeiten, die in Tabelle 7 zusammengestellt sind, können deshalb für die beiden Serien (Dosis T_2 und T_3) nicht direkt verglichen werden. Es zeigen sich hier bei beiden Serien im 2. und im X-Chromosom einige Fälle mit erhöhter Vitalität, die jedoch auch zufallsmäßig in der Häufigkeit von 1—2% erwartet werden müssen, nämlich $2^1/_2$% der Fälle ohne Mutation (deren Mittelwerte mit dem Kontrollwert verglichen und entsprechend der 95%-Grenze beurteilt werden).

IV. Ergebnisse.

Die Zusammenstellung Tabelle 8 (S. 528) enthält alle Werte, die nach den verschiedenen Methoden aus den beiden Experimenten als Mutationshäufigkeit errechnet wurden. Die Berechnung der Häufigkeit von Mutationen mit Ver-

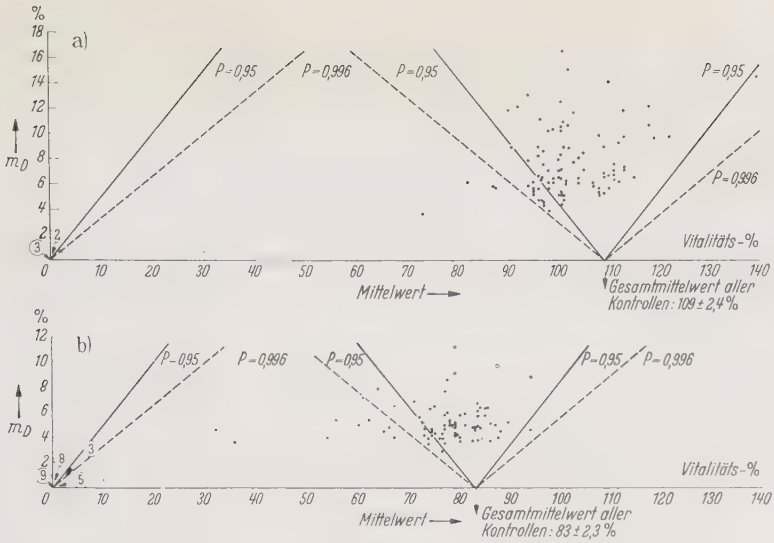

Abb. 9.

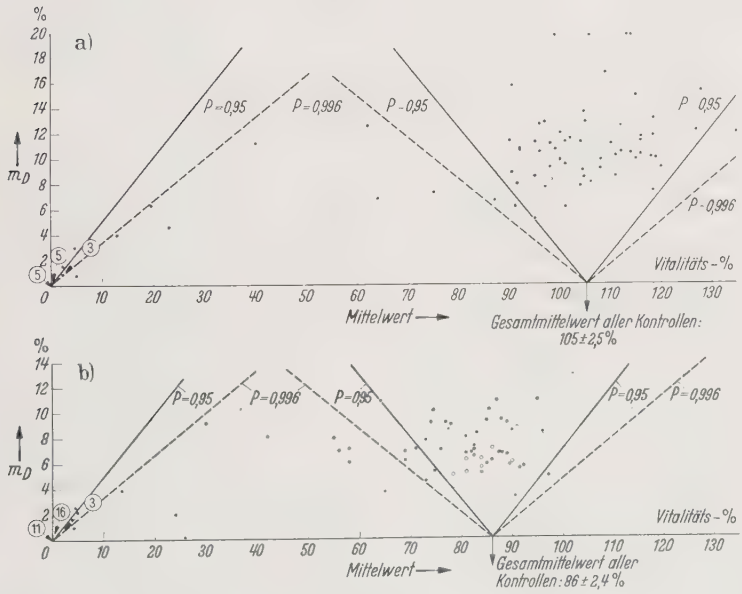

Abb. 10.

Abb. 9 u. 10. Experiment B, Punktdiagramm aller berechneten Mittelwerte M (Abszisse) und der zugehörigen mittleren Fehler der Differenz vom Kontrollmittelwert m_D (Ordinate) zur Beurteilung der wahrscheinlichen Abweichung von normal oder letal. — — $P = 0{,}95$ Grenzgerade, Differenz vom Kontrollmittelwert (bzw. 0 %) zweimal so groß wie m_D. Mittelwerte außerhalb wahrscheinlich abweichend. - - - - $P = 0{,}996$ Grenzgerade, Differenz D dreimal so groß wie m_D. Fälle außerhalb mit statistisch gesicherter Abweichung. (2), (8), (5), (16): Anzahl getesteter Chromosomen mit sozusagen gleichen Mittelwerten sehr nahe bei 0 %: 3, 9, 5, 11: Zahl der geprüften Chromosomen mit genau 0% Vitalität, wenn außerhalb angeschrieben. ○○○○ Kontrollen. · · · · bestrahlte Chromosomen. Abb. 9: Dosis T_2, Mittelwerte aus je ca. 20 Zuchten (wenige Ausnahmen aus 17—19 Zuchten). a X-Chromosom, b 2. Chromosom. Abb. 10: Dosis T_3, Mittelwerte aus 10 Zuchten (selten 8—9 oder 11). a X-Chromosom, b 2. Chromosom.

minderung der Vitalität ist hier nach Subtraktion der Letalen durchgeführt, um eine gemeinsame Vergleichsbasis zu schaffen (unabhängig von der absoluten Größe der Letalmutationsraten, die von Bestrahlungsdosis und Chromosomenlänge abhängig variiert, vgl. S. 519).

Tabelle 9 (S. 529) gibt die Häufigkeiten bei normaler Prozentberechnung (inklusive Letale); diese Werte sind für die Beurteilung der Gesamtmutationsrate zu verwenden, wie auch für den Vergleich mit entsprechend berechneten Werten anderer Arbeiten.

Tabelle 8. *Induzierte Mutationshäufigkeiten, berechnet nach den verschiedenen Methoden. Zusammenstellung.*
Prozentberechnung der Mutationen mit verminderter Vitalität nach Subtraktion der Letalen.

	Letalfaktoren		Mutationen mit verminderter Vitalität	
	X-Chromosom	2. Chromosom	X-Chromosom	2. Chromosom
Experiment A.				
a) Aus der Verteilung auf Klassen von 3° nach Winkeltransformation, ohne Bewertung:				
Dosis T_1 . .	5,4	13,7	3,9	7,6
T_2 . .	11,4	29,0	5,4	20,3
T_3 . .	16,3	34,0	10,3	27,9
b) Aus der Verteilung auf Vitalitätsklassen von 10%. (Bewertung):				
Dosis T_1 . .	4,0	12,2	5,5	5,6
T_2 . .	11,0	27,5	6,6	17,2
T_3 . .	14,2	34,0	11,7	25,2
c) Aus den Häufigkeiten außerhalb der $\chi^2_{0,95}$-Kurve.				
Dosis T_1 . .	4,6	14,6	2,5	5,5
T_2 . .	11,6	32,2	2,3	12,2
T_3 . .	13,4	35,9	5,3	19,3
Experiment B mit Wahrscheinlichkeit $P = 0{,}95$.				
Dosis T_2 . .	5,0	16,2	16,8	31,8
T_3 . .	16,7	34,6	20,0	39,6
mit Wahrscheinlichkeit $P = 0{,}996$.				
Dosis T_2 . .	5,0	19,5	4,2	17,6
T_3 . .	21,4	40,7	12,1	20,8

1. Dosisabhängigkeit der Mutationsrate.

Es wurden zur Mutationsauslösung verschiedene Dosen von Röntgenstrahlen gewählt, um festzustellen, wie die Mutationsrate der verschiedenen Typen von Vitalitätsmutationen von der Strahlenmenge abhängt.

Aus den in der Zusammenstellung (Tabelle 8, 1. Kolonne, Experiment A) angegebenen Werten ist ersichtlich, daß die Häufigkeit der *Letalfaktoren* mit steigender Dosis zunimmt, und zwar beim X-Chromosom eher etwas mehr als proportional zur Dosis. Für das 2. Chromosom ist die Übereinstimmung mit der infolge der Proportionalität erwarteten Exponentialkurve recht gut (Wert für mittlere Dosis liegt etwas zu hoch).

Die Häufigkeit der *Mutationen mit verminderter Vitalität* nehmen ebenfalls ungefähr proportional zur Dosis zu. Die Werte für das 2. Chromosom zeigen deutlich, aber statistisch nicht gesichert, ein rascheres Ansteigen [obschon aus folgenden Gründen gerade das Gegenteil zu erwarten wäre: 1. Letalfaktoren auf dem gleichen Chromosom überdecken eine Vitalitätsmutation (durch Prozentberechnung nach Subtraktion der Letalen wird die dadurch entstehende Verfälschung der Resultate korrigiert). 2. Zwei Semiletale auf dem gleichen Chromosom können einen Letalfaktor vortäuschen, da z. B., wenn 2 Faktoren von 10% Vitalität vorhanden sind, die Lebenswahrscheinlichkeit nur noch 1% beträgt. 3. Außerdem können wie bei Letalfaktoren mehrere Vitalitätsmutationen auf dem gleichen Chromosom nicht einzeln festgestellt werden].

Die Dosisabhängigkeit der Mutationsrate ist also für letale und vitalitätsvermindernde Mutationen, bei X- und 2. Chromosom entsprechend, und zwar steigt die induzierte Mutationshäufigkeit ziemlich genau proportional zur Bestrahlungsdosis an.

2. *Vergleich der Häufigkeit von Letalmutationen mit der Häufigkeit von Semiletalen + Subvitalen.*

Da die Bestimmung der Letalmutationsrate weitaus am einfachsten ist und gewöhnlich zur Prüfung der mutagenen Wirkung bestimmter Agentien durchgeführt wird, ist es wünschbar, das Verhältnis der Häufigkeiten der verschiedenen Typen von Vitalitätsmutationen zu kennen, um daraus die Gesamtmutationsrate beurteilen zu können.

Tabelle 9.

Induzierte Mutationshäufigkeiten. Zusammenstellung.

„Normale" Prozentberechnung (einschließlich Letale, s. S. 528).

	X-Chromosom		2. Chromosom	
	letal	vermindernde Vitalität	letal	vermindernde Vitalität
	%	%	%	%
Experiment A				
a) Aus der Verteilung auf Klassen von 3° nach Winkeltransformation ohne Bewertung:				
Dosis T_1 . .	5,4	3,7	13,7	5,1
T_2 . .	11,4	4,5	29,0	11,5
T_3 . .	16,3	8,2	34,0	15,0
b) Aus der Verteilung auf Vitalitätsklassen von 10% (Bewertung):				
Dosis T_1 . .	4,6	5,2	12,2	4,7
T_2 . .	11,0	6,0	27,5	12,7
T_3 . .	14,2	10,1	34,0	17,0
c) Aus den Häufigkeiten außerhalb der $\chi^2_{0,95}$-Kurve:				
Dosis T_1 . .	4,6	2,4	14,6	4,7
T_2 . .	11,6	2,0	32,2	8,3
T_3 . .	13,4	4,6	35,9	12,4
Experiment B				
mit Wahrscheinlichkeit $P = 0,95$:				
Dosis T_2 . .	5,0	16,0	16,2	26,7
T_3 . .	16,7	16,7	34,6	25,9
mit Wahrscheinlichkeit $P = 0,996$:				
Dosis T_2 . .	5,0	4,0	19,5	14,3
T_3 . .	21,4	10,6	40,7	12,3

Experiment A.

Wie aus der Zusammenstellung (Tabelle 9, Vergleich von 1. mit 2. und von 3. mit 4. Kolonne) ersichtlich ist, beträgt die Häufigkeit von Mutationen, die eine verminderte Vitalität (Abweichung mehr als 20%) aufweisen, $^1/_3$—$^2/_3$ der Letalmutationsrate.

Die experimentelle Anordnung und statistische Auswertung dieses Experimentes entspricht, wie oben (S. 511) erwähnt, ziemlich genau derjenigen in Timofeéffs Arbeit (1935). Die Resultate stimmen jedoch nicht überein. Timofeéff erhält etwa doppelt so viele Mutationen mit verminderter Vitalität (Abweichungen über 15%), also bedeutend mehr als in vorliegenden Versuchen.

Ein Unterschied in der Versuchsanordnung (vgl. S. 517) liegt darin, daß Timofeéff Zuchten mit kleinen Aufwachszahlen ausschloß (um möglichst gleiche Anzahlen zu erhalten, wurden die Pärchen so lange umgesetzt, bis eine bestimmte Größe der Nachkommenzahl erreicht wurde; diese stimmt etwa mit den mittleren Anzahlen in vorliegender Untersuchung überein). Infolge dieses Vorgehens sind möglicherweise relativ viele Letalfaktoren (z. B. jene mit gewissem Dominanzeffekt) ausgeschlossen worden (Tabelle 3, S. 521, zeigt für diese Untersuchung, daß der Prozentsatz von Letalfaktoren in Zuchten mit kleinsten Nachkommenzahlen durchwegs extrem groß ist). Der Prozentsatz der Letalmutationen ist bei

Timofeéff in der Tat ziemlich niedrig (12—13% bei 6000 r, während Timofeéff selber (1934) angibt, daß (aus den Ergebnissen verschiedener Forscher berechnet) für 6000 r 15,6 ± 1,78% erwartet werden.

Dies kann jedoch den großen Unterschied zwischen den Resultaten in Timofeéffs und vorliegender Arbeit bei weitem nicht erklären. Eine weitere mögliche Annahme wäre, daß die beiden verwendeten Fliegenstämme verschiedene Verhältnisse in bezug auf die Mutabilität von Vitalitätsgenen aufweisen.

Experiment B.

Dieses Experiment entspricht weitgehend den Versuchen von Kerkis (1938). Dieser züchtete genetisch gleiche Tiere sowohl mit als auch ohne „overcrowding" so daß sich 2 Serien von Vitalitätsbestimmungen ergaben. Zum Vergleich mit vorliegender Arbeit, deren Zuchten schwaches Overcrowding aufwiesen, wurde ungefähr das Mittel der beiden Serien verwendet. Kerkis berechnete Mittelwert und Streuung des Vitalitätsverhältnisses, und zwar für etwa die Hälfte der Fälle aus Auszählungen in *einer* Generation, für die andere Hälfte, viel genauer, aus Auszählungen über 3—11 Generationen (vgl. S. 511). Leider sind keine getrennten Angaben vorhanden, sondern es sind "as in both these groups the data obtained were essentially the same" nur die aus beiden Gruppen summierten Häufigkeiten angegeben. Es ist dies erstaunlich, da bei größerer Genauigkeit kleinere Abweichungen (also mehr Mutationen) statistisch erfaßbar sind, wie es sich auch in der vorliegenden Arbeit zeigt (s. unten). Es fehlen auch Angaben über die absoluten Werte von Mittel und Abweichungen, so daß die Genauigkeit nur ungefähr beurteilt werden kann.

Muller gibt jedoch an (1950, S. 34; wie oben S. 510 erwähnt), "that in the experiments referred to the counts were large enough for only those detrimental mutations which caused a lowering of survival of some 15% or more to be perceptible." Dies würde etwa der Genauigkeit der 10er-Serie (Dosis T_3) in diesem Experiment entsprechen, während die große Anzahl der schwach gesicherten Subvitalen der genaueren 20er-Serie (Dosis T_2) durchwegs Abweichungen von weniger als 15% aufweisen.

Kerkis gibt nur die Zahl der stark gesicherten Fälle an und erhält so etwa 12,5% „Semilethals" bei etwa 10,5% Letalen, also ein Verhältnis von etwa $1^1/_4$. Der entsprechende Wert aus vorliegender Arbeit beträgt rund $^4/_5$ (so berechnet, daß ebenfalls nur die Abweichungen über 15% erfaßt werden, nämlich: Werte bei 99%-Grenze von der 20er-Serie mit Dosis T_2, und Mittelwert aus Häufigkeit bei 95%- und 99%-Grenze für 10er-Serie mit Dosis T_3). Auch hier zeigt sich also eine kleinere Häufigkeit von Vitalitätsmutationen (im Bereich der Vitalität kleiner 85%) als in den schon bekannten Versuchen von Kerkis.

Getrennt zu betrachten sind die Werte für die genauere Serie (Dosis T_2) mit 95%-Grenze, wo Mutationen, die die Vitalität herabsetzen, gut 2mal so häufig sind wie Letalmutationen. Wie aus dem Diagramm (Abb. 9, S. 527) ersichtlich ist, werden dabei Vitalitätsmutationen mit geringen Abweichungen erfaßt (6 bis 15%), deren Zahl hier offenbar bedeutend ist (vgl. S. 526). Außerdem fällt auf, wie viele jener Fälle, deren Abweichung nicht gesichert ist, *kleineren* Durchschnitt als den Kontrollmittelwert aufweisen. Es liegen nämlich etwa *doppelt* so viele Minus- wie Plus-Abweichungen vor, so daß die Hälfte der ersteren als wahr-

scheinlich genetisch bedingt betrachtet werden kann. Genau dasselbe stellt Kerkis fest, und gewinnt daraus seine hohe Schätzung der Häufigkeit von „detrimentals" (als insgesamt mehr als 3mal so groß wie die Letalmutationsrate).

Sehr viel schwächer ausgeprägt zeigt sich dasselbe in vorliegender Arbeit für die 10er-Serie mit Dosis T_3; trotz der höheren Dosis sind hier also weniger schwachsubvitale feststellbar, und zwar gleichmäßig für beide Chromosomen. Um zu beurteilen, ob die verschiedene Genauigkeit diesen Unterschied erklärt, oder ob wirklich bei höherer Dosis relativ weniger Vitalitätsmutationen mit schwacher Wirkung auftreten, müßte diese Serie mit größerer Genauigkeit wiederholt werden.

Tabelle 10. *Verhältnis der Mutationsrate des 2. zu derjenigen des X-Chromosoms* (berechnet aus Tabelle 8, S. 528).

	Letal-mutationen	Mutationen mit verminderter Vitalität
Experiment A, a) T_1 . . .	2,5	2,0
T_2 . . .	2,5	3,7
T_3 . . .	2,1	2,7
b) T_1 . . .	3,1	1,1
T_2 . . .	2,5	2,6
T_3 . . .	2,5	2,2
c) T_1 . . .	3,2	2,2
T_2 . . .	2,8	5,3
T_3 . . .	2,7	3,6
Experiment B, $P = 0{,}95$		
T_2 . . .	3,2	1,9
T_3 . . .	2,1	2,0
Mittelwert	2,65	2,66

Bei gesamthafter Beurteilung aller Experimente der vorliegenden Arbeit kann also festgestellt werden, daß Semiletale und Subvitale mit Abweichungen von mehr als 15% etwa $^3/_4$mal so häufig auftraten wie Letalfaktoren. Die genaueste Serie zeigt außerdem eine wahrscheinliche Mutationshäufigkeit für Subvitale mit Abweichungen von etwa 6—15%, die ungefähr der Letalrate entspricht (und bietet überdies noch Anzeichen für schwächer subvitale Mutationen in größerer Zahl, die bei den anderen Serien nicht festgestellt werden konnten).

3. Vergleich des Verhältnisses der Häufigkeit von vitalitätsvermindernden zu letalen Mutationen bei X- und 2. Chromosom.

Rezessive Mutationen auf dem Geschlechtschromosom kommen im Männchen sofort zur Auswirkung und werden deshalb viel stärker der Selektion unterworfen als rezessive Mutationen auf den Autosomen. Es wäre denkbar, daß sich dadurch auf dem X-Chromosom besondere, stabilere Verhältnisse herausbildeten als auf den anderen Chromosomen.

Ein Vergleich der entsprechenden Werte (Zusammenstellung Tabelle 8, S. 528) zeigt jedoch, daß nach den Ergebnissen dieser Versuche kein solcher Unterschied festzustellen ist. Dies steht im Gegensatz zu Ergebnissen von Berg (1937), der (allerdings an kleinem Material) Anzeichen dafür fand, daß im X-Chromosom semiletale Mutationen häufiger seien als letale, im 2. Chromosom umgekehrt (vgl. S. 511).

4. Verhältnis der Mutationshäufigkeiten des 2. und des X-Chromosoms.

Es stellt sich die Frage, ob Gene verschiedener Labilität mit Einfluß auf die Vitalität gleichmäßig über das ganze Genom verteilt sind. Wenn dies der Fall ist, werden die Mutationshäufigkeiten dem Längenverhältnis der Chromosomen

ungefähr entsprechen, wie für Letalmutationen festgestellt wurde (Plough und Child 1937).

Aus entsprechenden Werten (Tabelle 8) wurden die in Tabelle 10 (S. 531) dargestellten Werte für das Verhältnis der Mutationshäufigkeit des 2. zu derjenigen des X-Chromosoms berechnet.

Beide Typen von Vitalitätsmutationen zeigen also (zufällig genau) den gleichen durchschnittlichen Wert von 2,65 als Verhältnis der Mutationsrate des 2. und des X-Chromosoms; er stimmt auch sehr gut mit jenem von Plough und Child (1937) errechneten Verhältnis überein, das 2,7 beträgt und ungefähr dem Längenverhältnis der genetisch aktiven Teile der beiden Chromosomen entspricht. Es gilt also für alle Vitalitätsmutationen, daß die Mutationsrate der verschiedenen Chromosomen den Größen ihrer genetisch aktiven Teile proportional ist (d. h., daß die entsprechenden Gene in relativ gleicher Häufigkeit im X- wie im 2. Chromosom vorhanden sind).

V. Zusätzliche Feststellungen.

1. Weiterzucht von Semiletalen von Experiment A.

Da bei Experiment A alle Auszählungen nur Einzelwerte sind, und ein abweichendes Vitalitätsverhältnis infolge einer Mutation nicht von einem zufällig (durch Streuung) entstandenen unterschieden werden kann, wurde bei einer Reihe von auffällig stark abweichenden Verhältnissen versucht, durch weitere Auszählungen die genetische Grundlage zu ermitteln. 23 in der F_3 als semiletal klassierte Fälle wurden weitergezüchtet und in mehreren Zuchten das Vitalitätsverhältnis in der F_4 ausgezählt. Etwa die Hälfte dieser 23 Fälle hatte in der F_3 nur wenige „Durchbrenner" gezeigt (Vitalität unter 5%), die übrigen eine Vitalität zwischen 5 und 50%. Die genaueren Bestimmungen nach den Auszählungen in der F_4 erwiesen von diesen 23 Fällen 3 als letal, 1 als normal und 18 als semiletal. In einem Fall zeigten die verschiedenen Zuchten in der F_4 ganz verschiedene Verhältnisse, nämlich: 1. Zucht: Vitalität normal, 120%, 2. Zucht: letal, 0%, 3. und 4. Zucht: semiletal, 7,5% und 30% Vitalität. Es könnte sich hier um einen Fall eines „mosaic-lethals" (im Sinne von Auerbach 1947) handeln.

Aus diesen Weiterzuchten ist ersichtlich, daß bei der Größe der vorhandenen Auszählungen stark abweichende Verhältnisse in den Einzelauszählungen meist den genetischen Grundlagen entsprechen und selten zufallsbedingt sind.

2. Lethalclusters.

Wenn mehrere Letalfaktoren des 2. Chromosoms beim selben Männchen auftraten, wurden sie untereinander ausgekreuzt und auf Identität geprüft. 109 solche Testkreuzungen ergaben nur einen Fall, bei dem keine +/+-Tiere auftraten (da gerade hier das zur Kreuzung verwendete Weibchen nicht mit Sicherheit unbefruchtet war, ist auch in diesem Fall Identität nicht bewiesen). Es zeigt sich also, daß sich bei der gewählten Versuchsanordnung keine Lethalclusters bildeten, die das Bild der festgestellten Mutationshäufigkeiten hätten verfälschen können.

3. Translokationen.

In einigen Fällen, vor allem bei der Serie mit höchster Bestrahlungsdosis, zeigten sich ungewöhnliche Aufspaltungsverhältnisse, die durch die Annahme einer Translokation zwischen dem X- und dem 2. Chromosom erklärt werden können.

Es konnten zwei Typen unterschieden werden: a) Translokation homozygot letal; b) Translokation homozygot vital. Ihre Häufigkeit in den Serien verschiedener Bestrahlungsdosis war folgende: (Tabelle 11).

Als Dosisabhängigkeit zeigt sich hier also eine Zunahme, die rascher als proportional zur Dosis im Quadrat vor sich geht. Da es sich um kleine Zahlen handelt, kann die Abweichung der für Translokationen allgemein festgestellten Gesetzmäßigkeit (Häufigkeit proportional zur Dosis hoch $^3/_2$) zufällig sein (die Prozentwerte sind berechnet aus beiden Experimenten zusammen und beziehen sich also für jede Dosis auf 400—600 geprüfte Chromosomen).

Tabelle 11.

	T_1 %	T_2 %	T_3 %
Typus a	0,25	1,4	2,9
Typus b			2,6
			total 5,5

4. Allgemeinvitalität in den Serien verschiedener Bestrahlungsdosis.

Die Dauer der Eiablage wurde, wie oben (S. 514 und 517) erwähnt, limitiert und für Kontrollen und Versuchszuchten genau gleich gehalten. Deshalb gibt der Vergleich der Nachkommenzahlen gewissen Aufschluß über die Wirkung der Bestrahlung auf die Allgemeinvitalität (im weiteren Sinne) bei diesen Zuchten (Fertilität, Fekundität, dominante Vitalitätsmutationen usw.).

Vor allem fiel auf, daß die Nachkommenzahlen in der F_1 bei Versuchszuchten viel kleiner waren als bei Kontrollen, namentlich nach Bestrahlung mit Dosis T_2 und T_3. Für einen genaueren Vergleich wurde in einigen Serien die Zahl der Nachkommen jedes P_1-Männchens (je 50 Männchen nach Bestrahlung mit Dosis T_2 und T_3 und 20 Kontrollmännchen) bestimmt (Eiablage 2mal 2 Tage). Aus diesen Zahlen ergab sich, daß die Nachkommenzahl der mit Dosis T_2 bestrahlten Männchen durchschnittlich 25—30%, bei Dosis T_3 nur etwa 6—9% der Anzahl bei Kontrollen betrug.

Wieweit diese Verminderung der absoluten Nachkommenzahl von somatischen Defekten der bestrahlten Männchen (Fekundität), wieweit von der genetischen Konstitution der F_1 (dominante Mutationen) abhängt, wurde nicht untersucht.

Ein Vergleich der Mittelwerte der absoluten Anzahl *Cy*/+-Tiere in den verschiedenen Serien der F_3 (je 50—70000 Tiere) ergab folgendes:

Kontrolle	durchschnittlich	150	*Cy*/+-Tiere
Dosis T_1	,,	136	,,
Dosis T_2	,,	130	,,
Dosis T_3	,,	124	,,

Nach einer Korrektur, welche den Ausfall eines Teiles der *Cy*-Tiere beim Vorhandensein von rezessiven Letal- oder Semiletalmutationen auf dem X-Chromosom (maximale Schätzung) berücksichtigt, ergeben sich folgende Werte:

Kontolle	150	*Cy*/+-Tiere
T_1	140	,,
T_2	136	,,
T_3	134	,,

Die gleichmäßige Abnahme dieser Anzahlen mit zunehmender Dosis kann durch das Auftreten von dominanten Fertilitäts- oder Vitalitätsmutationen oder gewissen Dominanzeffekten der rezessiven, vor allem der letal wirkenden (Stern und Novitski 1948) Vitalitätsmutationen erklärt werden. Auch rezessive Mutationen auf dem 3. Chromosom werden nach der Auskreuzung in der F_3 teilweise homozygot vorhanden sein und gewissen Ausfall bewirken.

5. *Auskreuzung mit wiederholt aufgetretenen Phenol-Letalfaktoren.*

Für die Auslösung von Mutationen mit Phenol war von NIGGLI (1946) und HADORN, BERTANI und ROSIN (1949) teilweise derselbe *Drosophila*stamm verwendet worden, wie in vorliegender Arbeit. Es zeigte sich bei jenen Versuchen, daß einige Letalfaktoren mehrfach auftraten. Wenn es sich dabei um labile Gene des Stammes handelte, wäre es möglich, daß auch Röntgenstrahlen vorzüglich diese Mutationen auslösen würden. Deshalb wurden viele der erhaltenen Letalfatoren des 2. Chromosoms mit zwei Phenol-Letalfaktoren, wovon der eine 7-, der andere 3mal aufgetreten war, ausgekreuzt und auf Identität geprüft. 32 Testkreuzungen mit dem ersteren und 84 mit dem andern ergaben keinen Fall von Identität. Es konnten also keine labile Gene aufgedeckt werden, die die wiederholt aufgetretenen Letalmutationen der Phenolversuche erklären könnten.

6. *Mehrfach aufgetretene sichtbare Mutationen* (?).

Dreimal traten im X-Chromosom Flügelmutationen auf, die phänotypisch nicht unterschieden werden konnten (Testkreuzungen gelangen nicht, da die Männchen offenbar steril waren).

Zweimal wurde eine Augenfarbenmutation (ähnlich „garnet") im 2. Chromosom festgestellt. Auch hier konnte Identität nicht nachgewiesen werden, da eine der beiden Mutationen verlorenging; die andere zeigte bei Weiterzucht komplizierte Verhältnisse und pleiotropen Effekt auf Beinbildung mit schwacher Penetranz.

Zusammenfassung.

1. Durch Röntgenbestrahlung wurden bei Männchen von *Drosophila melanogaster* Mutationen ausgelöst. Die bestrahlten Tiere wurden mit einem „Inversionsstamm" ausgekreuzt und in der F_2 und F_3 die verschiedenen Mendelklassen für das X- und das 2. Chromosom ausgezählt. So konnten durch Vergleich mit den Kontrollen Vitalitätsmutationen, die die Aufwachszahl beeinflussen, festgestellt werden. In einem 1. Experiment wurden für jede Dosis und Kontrollen je etwa 500 Chromosomen geprüft, indem 2—3 Paarzuchten ausgezählt wurden. Durch einen Gesamtvergleich mit den Kontrollen konnte auf die ungefähre Häufigkeit von Vitalitätsmutationen geschlossen werden. Im 2. Experiment wurden für 2 verschiedene Bestrahlungsdosen je etwa 100 Chromosomen einzeln genau untersucht, indem etwa 10 bzw. 20 Zuchten ausgezählt, ihr mittleres Vitalitätsverhältnis und die Wahrscheinlichkeit für eine systematische Abweichung vom Kontrollmittelwert bestimmt wurden.

2. Mutationen, die die Vitalität vermindern, traten in größerem Prozentsatz auf, dagegen konnten Supervitale zwar in geringem Prozentsatz festgestellt, aber nicht statistisch gesichert werden.

3. Zur Bestrahlung wurden 3 verschiedene Röntgendosen im Verhältnis 1:2:3 gewählt. Die Häufigkeit der Letalmutationen erwies sich für 2. und X-Chromosom als annähernd proportional mit der Strahlendosis zunehmend, desgleichen die Häufigkeit der vitalitätsvermindernden Mutationen. Für letztere zeigte sich zwar beim 2. Chromosom ein etwas rascheres Ansteigen, das aber statistisch nicht erfaßbar war.

4. Semiletale und stark subvitale Mutationen, die die Vitalität um mehr als 15% vermindern, traten etwa $^3/_4$mal so häufig auf wie Letalmutationen; Vitalitätsmutationen mit Abweichungen von 6—15% wurden in einer Serie, die solche Bestimmungen erlaubte, etwa gleich häufig wie Letalmutationen festgestellt. In dieser Serie konnte überdies auf eine größere Anzahl von Mutationen mit noch schwächerer Wirkung geschlossen werden.

5. Es ergab sich kein Unterschied in bezug auf das Verhältnis von Letal- zu anderen Vitalitätsmutationen zwischen dem X- und dem 2. Chromosom.

6. Das Verhältnis der Mutationsraten des 2. zu der des X-Chromosoms betrug für Letal- und andere Vitalitätsmutationen gleichviel, durchschnittlich 2,6—2,7, was dem Längenverhältnis der genetisch aktiven Teile dieser beiden Chromosomen entspricht. Die Mutationen traten offenbar gleichmäßig über das ganze Genom verteilt auf.

Die Anregung zu vorliegender Arbeit verdanke ich meinem verehrten Lehrer Herrn Prof. Dr. E. Hadorn. Ihm möchte ich an dieser Stelle für die fördernden Ratschläge und das Interesse, mit dem er meine Arbeit stets verfolgte, meinen herzlichen Dank aussprechen. Es wurde mir mit diesem Thema Gelegenheit gegeben, die Kenntnisse und Erfahrungen, die ich im Institute of Animal Genetics in Edinburgh hatte erwerben können, zu verwerten.

Herrn Prof. Dr. K. Mather (Birmingham) verdanke ich wertvolle Angaben und Anleitung bei der statistischen Auswertung, ebenso Herrn Prof. Dr. A. Linder (Genf) und Herrn Prof. Dr. B. L. v. d. Waerden (Zürich). Für unentgeltliche Überlassung einer elektrischen Registrier-Rechnungsmaschine während mehrerer Wochen, die mir die Durchführung der statistischen Berechnungen mit größter Genauigkeit ermöglichte, danke ich der Firma Burroughs. Ebenso bin ich Herrn Prof. Dr. H. Schinz, der mir die Benützung des Röntgenapparates in der Abteilung für Röntgentherapie des Kantonsspitals Zürich gestattete, und Herrn Dr. Scherrer, der die Bestrahlung meiner Versuchstiere durchführte, zu Dank verpflichtet.

Literatur.

Auerbach, C.: The induction by mustard gas of chromosal instabilities in *Drosophila melanogaster*. Proc. Roy. Soc. Edinburgh, Sect. B **62**, 307 (1947). — Berg, R. L.: The relative frequency of mutations in different chromosomes of *Drosophila melanogaster*. Genetics **22**, 225, 241 (1937). — Hadorn, E.: Begriffe und Termini zur Systematik der Letalfaktoren. Arch. Klaus-Stiftg **24**, 105 (1949). — Weitere Ergebnisse der „in vitro-Behandlung" von *Drosophila*-Ovarien mit Phenol. Pubbl. Staz. zool. Napoli **13**, 32 (1950). — Hadorn, E., G. Bertani and S. Rosin: Ergebnisse der Mutationsversuche mit chemischer Behandlung von *Drosophila*-Ovarien in vitro. Proc. 8. Internat. Congr. of Genetics. Hereditas (Lund) Suppl. Vol. 256 (1949). — Hadorn, E., u. H. Zeller: Fertilitätsstudien an *Drosophila melanogaster*. I. Untersuchungen zum altersbedingten Fertilitätsabfall. Roux' Arch. **142**, 276 (1943). — Kerkis, I.: Study of the frequency of lethal and detrimental mutations in *Drosophila*. Bull. Acad. Sci. URSS. **1938**, 75. — Mather, K.: Statistical analysis in biology, 3. Aufl. London: Methuen 1949. — Muller, H. J.: The effects of X-rays upon the hereditary material. Science of Radiology **1934**. — Some present problems in the genetic effects of Radiation. J. Cellul. a. Comp. Physiol. **35**, Suppl. 1, 9 (1950). — Niggli, H.: Mutationsversuche mit Chemikalien an *Drosophila melanogaster*. II. Wirkung von Phenol bei Behandlung von Larvenovarien in vitro, sowie nach Verfütterung und Eibehandlung. Genetica ('s-Gravenhage) **24**, 1 (1946). — Plough, H. H., and G. Child: Autosomal lethal Mutationfrequencies in *Drosophila*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. **23**, 435 (1937). — Stern, C., and E. Novitzki: The viability of individuals heterozygous for recessive lethals. Science (Lancaster, Pa.) **108**, 538 (1948). — Timofeéff-Ressovsky, N. W.: The experimental production of mutations. Biol. Rev. Cambridge Philos. Soc. **9**, 411 (1934). — Auslösung von Vitalitätsmutationen durch Röntgenbestrahlung bei *Drosophila melanogaster*. Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, Math.-physik. Kl., Biol. N. F. **1**, 163 (1935).

Dr. Etta Käfer, Zoologisch vergleichend-anatomisches Institut
der Universität Zürich.

Curriculum vitae.

Am 31. Juli 1925 wurde ich, Etta Käfer, von St. Gallen, in Zürich geboren. Ich besuchte hier die Primarschule und von 1938—1944 die Höhere Töchterschule, wo ich im Herbst 1944 die Maturitätsprüfung (Typus B) bestand. Anschließend begann ich meine Biologiestudien an der Universität Zürich. Das Wintersemester 1947/48 verbrachte ich in Lausanne, wo ich neben dem Studium in einem Privatinstitut unterrichtete. Im Sommer 1948 erwarb ich das Diplom für das höhere Lehramt (Hauptfach Zoologie). Während eines Semesters war ich „assistant collaborator" am „Institute of Animal Genetics" in Edinburgh. Im Herbst 1949 begann ich in Zürich unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. E. Hadorn meine Dissertation, an der ich bis heute mit einigen durch Vikariate an der Töchterschule verursachten Unterbrüchen arbeitete. Meine Lehrer im Hauptfach waren die Herren Professoren E. Hadorn, H. Steiner, R. Matthey und C. H. Waddington.